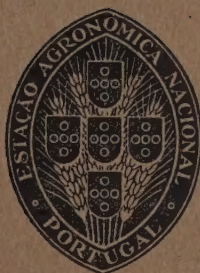
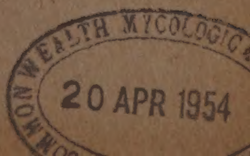
AGRONOMIA LUSITANA

VOL. 15 — N.º 3
1953



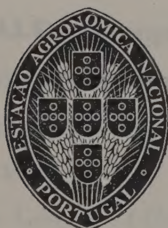
ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL
SACAVÉM
PORTUGAL



AGRONOMIA LUSITANA

VOL. 15 — N.º 3

1953



Estação Agronómica Nacional

PORTUGAL

TIP. ALCOBACENSE, LIMITADA
ALCOBAÇA

FUNGI LUSITANIAE

VI

Auctoribus

EMMANUELE DE SOUSA DA CAMARA

ET

AUGUSTO TEIXEIRA DE VASCONCELOS

À Secção de Botânica e aos Colectores vários da Estação Agronómica Nacional os nossos melhores agradecimentos por terem concorrido bastante para este nosso modesto trabalho, classificando e colhendo as plantas que nos serviram para estudo.

UREDINALES (Brongn.) Diet.

PUCCINIACEAE Schröt.

Amerosporae Sacc.

Uromyces Lk.

Uromyces inaequialtus Lasch. — (*Ured. Lusit.*, III, 319).

In foliis ramulisque *Silenes Cucubali* Wibel., pr. Régua (Pinhão, Quinta de Santa Bárbara), leg. Pinto da Silva, augusto, 1952.

Obs.: *aecidiis, uredosporis teleutosporisque visis.*

Uromyces Loti Blytt. — (*Ured. Lusit.*, II, 339, n. 13).

In foliis *Loti cretici* L., pr. Praia das Maçãs (Colares), leg. Bento Rainha, julio, 1952.

Obs.: *uredosporis 20,8-23,4×19,5-23,4* µ.; *teleutosporis 23,4--27,3×20,8* µ.

Uromyces Sillarum (Grev.) Wint. — (*Ured. Lusit.*, I, 422, n. 22).

In foliis *Scillae monophylli* Lk., pr. Ericeira, leg. Bento Rainha, januario, 1952.

Obs.: *teleutosporis 20,8-26×15,6-18,2* µ.

Uromyces verruculosus Schröt. — (*Ured. Lusit.*, III, 321, n. 144).

In caulibus *Silenes Cucubali* Wibel., pr. Torres Novas (Casas Altas), leg. Teixeira de Vasconcelos, octobri, 1951.

Obs.: *teleutosporis (26-31,2×20,8-26 μ.) tantum visis; pedicello relative longiusculis, 26-59,8×7,8 μ.*

Didymosporae Sacc.

Puccinia Pers.

Puccinia Andryalae (Syd.) R. Maire — (*Myc. Lusit.*, II, 345, n. 110).

In foliis *Andryalae Ficolhianae* Dav. et *Andryalae integrifoliae* L., pr. Cabo de S. Vicente (Algarve) et Valverde (Alenquer), leg. Pinto da Silva et Teixeira de Vasconcelos. junio, 1952.

Obs.: *uredosporis 26-31,2×18,2-23,4 μ.; teleutosporis 31-36,5× ×18-23,5 μ.*

Puccinia coronata Crd. — (*Ured. Lusit.*, II, 350, n. 117).

In foliis, vaginis culmisque *Avenae barbatae* Pott., pr. Valverde (Alenquer), leg. Teixeira de Vasconcelos, augusto, 1952.

Obs.: *teleutosporis (39-59,8×15,6-20,8 μ.) tantum visis.*

Socia *Puccinia graminis* Pers.

Puccinia graminis Pers. — (*Ured. Lusit.*, II, 354, n. 120).

In foliis, vaginis culmisque *Avenae barbatae* Pott., pr. Valverde (Alenquer), leg. Teixeira de Vasconcelos, augusto, 1952.

Obs.: *teleutosporis (39-48×15,6-20,8 μ.) tantum visis; pedicellis 18,2-50,7×3,9-5,2 μ.*

Socia *Puccinia coronata* Crd.

Puccinia Hypochoeridis Oud., f. **longipes** S. Cam., Oliv. et Luz (*Ured. Lusit.*, II, 355, n. 121).

In foliis pedunculisque *Hypochoeridis glabrae* L., pr. Ameixial (Serra do Caldeirão, Algarve), leg. Pinto da Silva, Fernando Fontes et Manuel da Silva, majo, 1952.

Obs.: *teleutosporis 31,2-44,2×15,6-26 μ.; pedicello usque 57,5 μ.*

Puccinia Pruni-spinosae Pers. — (*Uured. Lusit.*, I, 128, n. 68).

In foliis *Persicae vulgaris* Mill., pr. Torres Novas (Casas Altas), leg. Teixeira de Vasconcelos, augusto, 1952.

Obs.: *teleutosporis immaturis, adhuc plerumque continuis, 26-36,4×13-18,2 µ.*

Puccinia Bubigo-vera (DC.) Wint. — (*Ured. Lusit.*, I, 131, n. 74).

In foliis *Lolii temulenti* L., pr. Alenquer (Valverde), leg. Teixeira de Vasconcelos, junio, 1952.

Obs.: *teleutosporis (59,8-65×18,2-23,4 µ.) tantum visis.*

COLEOSPORIACEAE Diet.

Coleosporium Lév.

Coleosporium Inulae Rabh. — (*Ured. Lusit.*, II, 365, n. 93).

In foliis *Inulae viscosae* (L.) Ait., pr. Cercal do Montejunto, leg. Pinto da Silva et Prof, Garcia Cabral, junio, 1941.

USTILAGINALES (Tul.) Sacc. et Trav.

USTILAGINACEAE Tul.

Amerosporae Sacc.

Entyloma De By.

** 220 **Entyloma Chaenorrhini** n. sp. (fig. 1).

Soris sparsis gregariisve; sporis globosis, in catenulis, episporio crasso (1,3-2,6 µ.) chorinoque, 13-18,2×13-15,6 µ.

In foliis *Chaenorrhini origanifolii* (L.) Lge., pr. Sacavem (ad Hortum Stationis Agronomicae Nationalis), leg. Prof. Dr. Branquinho de Oliveira, Pinto da Silva et Manuel da Silva, februario, 1953.

PYRENIALES (Fr.) Sacc. et Trav.

SPHAERIACEAE (Fr.) Sacc.

Hyalosporae Sacc.

Physalospora Niessl

Physalospora Pittospori Alm. et S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, III, ap. *Rev. Agron.*, I, 138, n. 32, c. icon. (Tab. X, fig. 5-7) et *Mycofl. Lusit.*, III, IV et V, 13, n. 233; Sacc. et D. Sacc., *Syll.*, XVIII, 582.

In foliis *Pittospori undulati* Went., pr. Sacavem (ad Hortum

Stationis Agronomicae Nationalis), leg. Teixeira de Vasconcelos, majo, 1951.

Obs.: *peritheciis 234×221 μ.; ascis 104×20,8 μ.; sporidiis 18,2-24,7×6,5-10,4 μ.*

Hyalodidymae Sacc.

Apiospora Sacc.

Apiospora striola (Passer.) Sacc. — (*Myc. Lusit.*, IV, 28, n.° 188).

In culmis *Orysopsis miliaceae* (L.) Aschrs. et Schweinf., pr. Sacavem (ad Hortum Stationis Agronomicae Nationalis), leg. Augusto Teixeira de Vasconcelos, martio, 1950.

Obs.: *ascis 114-117×18-20,8 μ.; paraphysibus tenuissimis pluriguttulatisque; sporidiis 23,4-31,2×7,8-10,4 μ.*

Sphaerella Ces. et De Not.

** 221 **Sphaerella clypeata** n. sp. (fig. 2-4).

Peritheciis sparsis vel bi interdumque tetragregariis, subglobosis, semper clypeatis, nigris, 285×273 μ.; ascis octosporis, subellipsoideis, forte pediculatis, sicut videtur, incoloribus, 44-50×7,5-10,5 μ.; sporulis distichis, plus minusve ellipsoideis saepeque ovoideis, utrinque rotundatis vel aliquantum attenuatis, rectis, uniseptatis, constrictulis, tetraguttulatis, hyalinis, 13-15,6×3,9-6,5 μ.

Ad ramulos siccos *Jasmini* sp., in Serra de Montejunto (Alenquer), leg. Teixeira de Vasconcelos, augusto, 1951.

DISCALES (Fr.) Sacc. et Trav.

STICTIDACEAE Fr.

Scolecosporae Sacc.

Stictis Pers.

* 222 **Stictis mollis** Pers., in Sacc., *Syll.*, VIII, 683.

In ramis siccis *Jasmini* sp., in Serra de Montejunto (Quinta do Convento da Visitação), leg. Teixeira de Vasconcelos, auguto, 1951.

Obs.: *ascomatibus 310×250 μ.; ascis 137,8-158,6×13 μ.; sporidiis multiseptatis, plus minusve hyalinis, 117-150×2,6-3,9 μ.*

Socio *Coniothyrio Castagnei* Sacc.

SPHAEROPSIDALES (Lév.) Lind.

SPHAERIOIDACEAE Sacc.

Hyalosporae Sacc.

Dothiorella Sacc.

** 223 **Dothiorella Castaneae** n. sp. (fig. 5-6).

Pycnidiis subcutaneo-erumpentibus, in acervulis sparsis, plurilocularibus, conoideis, papillatis, nigerrimis; sporophoris cylindraceis, erectis, achrois, 15-18 μ. longis; sporulis fusoideis, utrinque attenuatis, rectiis, continuis, nubilosis, hyalinis, 10-18×5-6,5 μ.

In ramulis *Castaneae sativae* Mill., pr. Valverde (Alenquer), leg. Teixeira de Vasconcelos, augusto, 1951.

Macrophoma Sacc.

Macrophoma pedrosensis Bubák et Frag. — (*Fg. Lusit.*, II, 206, n. 69).

In foliis *Smilacis asperae* L., var. *nigrae* Willd., pr. Loures, leg. Manuel da Silva, martio, 1951.

Obs.: *sporulis 16-36×5-5,2 μ.*

An *Septoria* sp. ?

Phoma Fr.

Phoma Smilacis Boy. et Jacz. — (*Mycofl. Lusit.*, X, 37, n. 45).

In caulibus *Smilacis asperae* L., var. *nigrae* Willd., pr. Loures, leg. Manuel Silva, martio, 1952.

Obs.: *sporulis usque 3.9×2,5 μ.*

* 224 **Phoma tecomicola** Brun., in Sacc., *Syll.*, X, 155.

In vaginibus *Bignoniae Unguis-cati* L., pr. Sacavem (ad Hortum Stationis Agronomicae Nationalis), leg. Teixeira de Vasconcelos, majo, 1952.

Obs.: *pycnidiis usque 104×78 μ.; sporulis 7,8-10×3-4 μ.*

A *Phoma tecomicola* P. Henn. (*Syll.*, XVIII, 256) satis differt.

Socia *Hendersonia sarmentorum* West.

Phomopsis Sacc.

Phomopsis Jasmini Petr. — (*Myc. Lusit.*, VIII, 302).

Ad ramulos *Jasmini* sp., in Quinta do Convento (Serra de Montejunto, Alenquer), leg. Teixeira de Vasconcelos, augusto, 1951.

Obs.: *pycnidiis 208-314×117-182 μ.; sporophoris 13-26×2-2,5 μ.; sporulis 8-10,4×2,6 μ.*

Phaeosporae Sacc.

Coniothyrium Crd.

Coniothyrium Castagnei Sacc. — (*Myc. Lusit.*, V, 315, n. 250).

In ramulis siccis *Jasmini* sp., pr. Alenquer (Serra de Montejunto), leg. Teixeira de Vasconcelos, augusto, 1951.

Obs.: *sporulis 5,2-10,4×3,9-5,2 μ.*

Socia *Stictis mollis* Pers.

Phaeophragmiae Sacc.

Hendersonia Berk.

Hendersonia sarmentorum West. — (*Myc. Lusit.*, IX, 68, n. 515).

In ramis *Bignoniae Unguis-cati* L., pr. Sacavem (ad Hortum Stationis Agronomicae Nationalis), leg. Teixeira de Vasconcelos, aprili, 1952.

Obs.: *pycnidiis usque 169×117 μ.; sporulis 10,4-13×3,9 μ.*

Socia *Phoma tecomicola* Brun.

Hendersonula Speg.

Hendersonula Platani S. Cam. et Luz, *Myc. Lusit.*, II, 187, n. 157, c. icon. (Tab. IV, fig. 3-4).

In ramulis *Platani hybridae* Brot., leg. D. Maria Tereza Lucas, pr. Régua, aprili, 1952.

Obs.: *sporulis plerumque biseptatis, rarissime triseptatis, 26-28,6×10,4-13 μ.*

Scolecosporae Sacc.

Septoria Fr.

Septoria aegirina Passer. — (*Myc. Lusit.*, III, IV et V, 52, n. 430).

In foliis *Populi nigrae* L., pr. São Domingos de Carmões (Alenquer), leg. Teixeira de Vasconcelos, augusto, 1951.

Obs.: *pycnidiis hypophyllis sporulis 28,6-44,2×2,6-3,9 μ.*

* 225 **Septoria curvula** I. Miyake, in Sacc. et Trott., *Syll.*, XXII, 1120.

In foliis *Phalaris minoris* Retz., pr. Valverde (Alenquer), leg. Teixeira de Vasconcelos, julio, 1952.

Obs.: *sporulis 51,6-83,2 × 3,9-5,2* μ.

* 226 **Septoria Narcissi** Passer., in Sacc., *Syll.*, X, 382; Allesch., *Die Pilze*, VI, 818.

In foliis emortius *Amaryllis Belladonae* L., pr. Valverde (Alenquer), leg. Teixeira de Vasconcelos, julio, 1952.

Obs.: *sporulis 13-23,4 × 2-2,5* μ.

* 227 **Septoria Passerini** Sacc., *Syll.*, III, 560; Allesch., *Die Pilze*, VI, 794.

In foliis *Lolii temulenti* L., pr. Alenquer (Valverde), leg. Teixeira de Vasconcelos, majo, 1952.

Obs.: *sporulis 36,4-52 × 2,5-2,6* μ.

Sphaerographium Sacc.

Sphaerographium anomalum S. Cam. et Vasconcel., *Fg. Lusit.*, III, 256, n. 127, c. icon. (Tab. I, fig. 4-5).

In caulibus *Senecionis mikanioidis* Otto, circa Sintra (Algueirão), leg. Bento Rainha, januario, 1952.

Obs.: *sporophoris usque 10,4* μ. *long.; sporulis 26,2-31,2 × × 1,5-2* μ.

HYPHALES (Mart.) Sacc. et Trav.

DEMATIACEAE Fr.

Amerosporae Sacc.

Hadrotrichum Fck.

Hadrotrichum Phragmitis Fck. — (*Mycofl. Lusit.*, VIII et IX, 82, n. 190).

In foliis *Phragmitis communis* Trind., pr. Sacavem (ad Hortum Stationis Agronomicae Nationalis), leg. Loureiro Ferreira, augusto, 1951.

Obs.: *conidiis 10,4-15,6 × 10,4-14,3* μ.

Phaeosporae Sacc.

Coniosporium Lk.

* 228 **Coniosporium Oryzae** (Cattan.) Sacc., *Syll.*, IV, 244; Lind., *Hyphom.*, VIII, 559; Ferrar., *Hyphal.*, ap. *Fl. Ital. Cryptog.*, 205.

In culmis *Orysopsis miliaceae* (L.) Aschrs. et Schw., pr. Sacavem (ad Hortum Stationis Agronomicae Nationalis), leg. Teixeira de Vasconcelos, martio, 1952.

Obs.: *conidiis 9-15,5×5,2* μ.

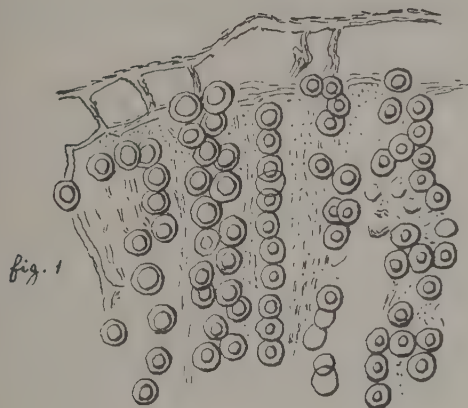
Scolecosporae Sacc.

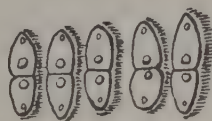
Cercospora Fr.

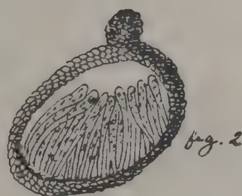
Cercospora Resedae Fck., var. **mahonensis** Frag. — (*Myc. Lusit.*, XII, 212, n. 624).

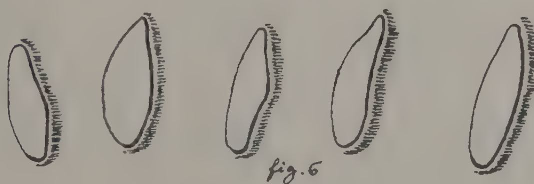
In foliis *Resedae luteolae* L., pr. Valverde (Alenquer), leg. Teixeira de Vasconcelos, augusto, 1951.

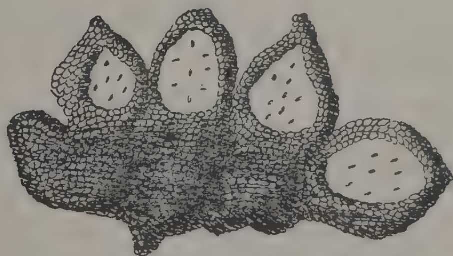
Obs.: *conidiis 36-122×5,2* μ.

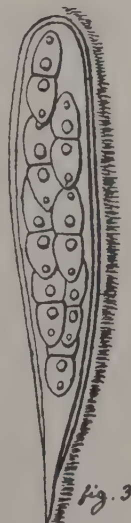

fig. 1


fig. 4


fig. 2


fig. 6


fig. 5


fig. 3

OS ÁCIDOS GORDOS ESSENCIAIS NAS GORDURAS ALIMENTARES PORTUGUESAS

POR *PAULO ORLANDO PEREIRA E SANTOS*
(Estação Agronómica Nacional)

INTRODUÇÃO

EMBORA de há muito se saiba que a carência de gordura no regime alimentar implica, num prazo mais ou menos longo, acentuadas perturbações no metabolismo, só nos últimos anos se tem procurado discriminar as funções desempenhadas pelos lípidos no processo nutritivo. A necessidade da inclusão de tais substâncias na dieta é advogada por múltiplas circunstâncias. Para além do seu elevado valor energético, constituem as gorduras o veículo normal das vitaminas A, D, E e exercem ainda um surpreendente efeito economizador («sparing action») sobre alguns elementos do complexo B e, possìvelmente, sobre as proteínas.

Nova e insuspeitada função dos lípidos alimentares se divisou mediante os ensaios, hoje clássicos, de GEORGE O. BURR e MILDRED M. BURR, realizados cerca de 1930. Demonstraram estes investigadores a imprescindibilidade de determinados ácidos gordos insaturados na dieta dos animais submetidos a ensaio. Não sendo possível ao organismo sintetizá-los, a sua ausência determina sintomas carenciais típicos. Na designação de «ácidos gordos essenciais» ou de «ácidos gordos indispensáveis» são englobados os ácidos linoleico, linolénico e araquidónico e porque a sua acção fisiológica tem múltiplos pontos de semelhança com a das vitaminas, alguns autores referem tais ácidos sob a rubrica de «vitamina F».

No domínio da fisiologia humana são ainda escassos os factos clínicos relacionados com as funções orgânicas dos ácidos gordos essenciais, mas tudo leva a supor que desempenhem também um papel específico no metabolismo do homem. «As funções dos ácidos gordos não saturados, cuja importância começa agora a ser desvendada nos animais de experiência, preocupam sèriamente os investigadores nutricionistas», escreve GONÇALVES FERREIRA (1949,

pág. 2). O completo esclarecimento do comportamento fisiológico dos ácidos gordos indispensáveis exige, sem dúvida, novas e repetidas investigações. Não são definitivos nem completos os conhecimentos colhidos acerca deste aspecto particular da fisiologia dos lípidos, mas as noções já adquiridas revestem-se de inegável interesse aos olhos dos nutricionistas.

Neste trabalho teve-se por objectivo a identificação e doseamento dos ácidos linoleico, linolénico e araquidónico em amostras-tipo das gorduras alimentares mais comuns no nosso país (Metrópole e Ultramar). Recorreu-se para o efeito ao método espectrofotométrico para a análise de gorduras, proposto pelo Spectroscopy Committee da «American Oil Chemists'Society» em 1949 e aperfeiçoado em 1951 e 1952.

Em face dos resultados do estudo analítico realizado e recorrendo aos elementos estatísticos oficiais referentes ao consumo de gorduras alimentares, fez-se, ainda, o balanço aproximado do quantitativo de ácidos gordos essenciais ao dispor da população metropolitana.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

I — O PROBLEMA DOS ÁCIDOS GORDOS ESSENCIAIS

1) — Trabalhos de *Burr* e *Burr*

Deve-se a BURR e EVANS, em 1926-27, a descrição de nítidas perturbações fisiológicas na ratazana obrigada a ingerir alimentos totalmente desprovidos de gordura. Alguns investigadores atribuiram a uma carência vitamínica as perturbações assim provocadas mas, em 1929, MCAMIS, ANDERSON e MENDEL notam que, apesar da introdução na dieta de todos os factores vitamínicos então conhecidos, o crescimento dos animais sofria um retardamento, na ausência de gorduras. De facto, sabe-se hoje que com rações completamente isentas de gordura, suplementadas embora com vitaminas, as desordens fisiológicas se manifestam igualmente.

O problema veio a ser esclarecido, em grande parte, pelos trabalhos de GEORGE O. BURR e MILDRED M. BURR. Demonstraram estes autores que a exclusão total de gordura no regime alimentar de ratazanas jovens provoca sintomas típicos de carência. Nos seus ensaios, submeteram os animais a uma dieta formada por açúcar, caseína pura e uma mistura salina, com um suplemento adequado

de vitaminas A, D, E e complexo B. Em 1929, na primeira comunicação sobre tais experiências, descreveram a sintomatologia observada, que comporta manifestações múltiplas: alterações patológicas da pele, paragem do crescimento, irregularidades na reprodução, lesões renais, etc. Volvidos cerca de cinco meses sobre o início do regime sem lípidos, o animal sucumbirá, se a tempo lhe não for ministrada uma dose curativa de gordura.

Os autores verificaram ser possível a cura das lesões cutâneas e o recomeço do crescimento pela simples junção à dieta de 10 gotas diárias de toucinho fundido. Extremamente emaciados, prestes a morrer, os animais escolhidos para o ensaio depressa regressaram ao aspecto normal.

Os mesmos investigadores procuraram determinar qual a fracção activa do toucinho e observaram não ser nem a glicerina nem o insaponificável. Concluiram que a surpreendente actividade anotada devia caber a algum ou alguns dos ácidos gordos veiculados pelas diminutas quantidades de toucinho administradas. E desde logo opinam possuir flagrante comportamento vitamínico o ácido ou ácidos em questão. A estes ácidos gordos ausentes no organismo das ratazanas carenciadas atribuiram a designação de «indispensáveis» ou «essenciais», por analogia com aqueles amino-ácidos cuja síntese é, também, impossível ao animal.

Para a identificação dos ácidos gordos indispensáveis, BURR e BURR (1930) estudaram o efeito de várias gorduras sobre as desordens cutâneas e sobre o crescimento e concluiram serem os ácidos em causa de natureza poliénica. Novo conjunto de experiências foi empreendido, utilizando ácidos gordos insaturados puros, administrados sob a forma de ésteres. Concluiram (1932) que:

a) — o oleato de metilo (1 dupla ligação) é inactivo;
b) — o linoleato de metilo (2 duplas ligações) é muito activo, tanto sobre as lesões cutâneas como sobre o crescimento;
c) — o linoleneato de metilo (3 duplas ligações) é activo;
d) — o eleostearato de metilo (3 duplas ligações conjugadas) é inactivo.

Inferiram, assim, o carácter essencial dos ácidos linoleico e linolénico.

Para o linoleato, o efeito óptimo foi alcançado com a dose de 10 gotas diárias. O resultado (aumento de peso) obtido com o linoleneato é sensìvelmente igual ao conseguido com o linoleato,

razão pela qual os autores emitem a opinião de que o ácido linolénico possa substituir o linoleico na cura de ratazanas com as perturbações típicas da exclusão total de lípidos na dieta. De acordo com estes resultados, o ácido oleico é agrupado ao lado dos saturados, dada a sua ineficácia na cura da doença descrita por BURR e BURR.

Por esta via se depreendeu serem os animais superiores tributários da alimentação pelo que toca a determinados ácidos gordos de insaturação elevada, conquanto possam sintetizar, a partir de fontes não gordas, os ácidos saturados e o oleico.

Aludindo a estes trabalhos iniciais, BURR e HANSEN (1946, pág. 855) escrevem: «For the first time then a specific function could be attributed to dietary fat other than its energy-producing properties and its action as a vitamin carrier».

Os ensaios de BURR e BURR puseram assim em foco a indispensabilidade na dieta da ratazana dos ácidos linoleico e linolénico. Trabalhos posteriores permitiram reconhecer que o carácter essencial não era exclusivo destes dois ácidos gordos insaturados, abrangendo hoje tal designação os ácidos linoleico, linolénico e araquidónico.

2 — TRABALHOS SUBSEQUENTES

EVANS e LEPKOVSKY (1932) repetem as experiências de BURR e BURR e confirmam as suas conclusões fundamentais.

TANGE (1932) e BECKER (1933) verificam a eficiência do ácido linoleico na cura das perturbações descritas. O primeiro autor confirma, também, o poder curativo do ácido linoleico e à ineficácia dos ácidos oleico, elaidínico, esteárico e clupanodónico.

Em 1933, HANSEN e BURR anotam uma circunstância a que posteriormente se concedeu grande interesse. Nas ratazanas atingidas pelo síndroma da deficiência de ácidos gordos essenciais, o índice de iodo dos lípidos do soro sanguíneo era significativamente mais baixo que nos animais testemunhas, o que denota uma insaturação menos pronunciada no primeiro caso. Observações ulteriores confirmam o facto em relação a outras espécies animais.

HUME e colaboradores (1938), ao comparar a eficiência curativa do linoleato com a do linoleneato de metilo, concluem ser o primeiro muito mais enérgico e de acção mais duradoura que o segundo, cifrando a potência do linoleneato em 1/6 da daquele. Certificam-se da ineficácia dos produtos de oxidação dos ácidos

linoleico e linolénico e verificam a inactividade do ácido chalmúgrico, do araquidato de metilo e dos ácidos di, tri e tetrahidroxisteárico. Ao invés, reconhecem aos ácidos docosahexenóico e hexahidroxisteárico a possibilidade de determinarem o aumento de peso dos animais carenciados, embora sem acção sobre as desordens da pele. Finalmente, deduzem que para os ácidos essenciais a capacidade de cura das lesões cutâneas não se encontra forçosamente unida ao poder de promoção do crescimento.

Mediante os trabalhos de TURPEINEN (1938) é concedido ao ácido araquidónico papel de particular relevo entre os ácidos gordos essenciais, pois se deduz tratar-se de um poderoso agente curativo do síndroma da « fat deficiency ». Verifica este autor que o máximo efeito sobre o crescimento é obtido com a dose diária de 33 mg. de araquidonato de metilo, enquanto para o linoleato de metilo são necessários 100 mg. diários para conseguir acção equivalente. Fundamenta deste modo a conclusão de que o ácido araquidónico é, pelo menos, cerca de 3 vezes mais potente que o linoleico na cura das perturbações de carência motivadas por exclusão de lípidos na dieta da ratazana. Assinalando a supremacia deste ácido como agente curativo, TURPEINEN sugere a hipótese de que a necessidade do organismo animal se traduza, fundamentalmente, em ácido araquidónico. O ácido linoleico e o ácido linolénico seriam eficazes sòmente na medida em que o organismo os convertesse naquele. Verificou ainda o mesmo autor que o alcool correspondente ao ácido linoleico denuncia propriedades curativas, embora mais atenuadas que as do ácido. TURPEINEN ensaia também em ratazanas o poder curativo dos ácidos erúcico, ricinoleico, 12-oleico, chalmúgrico, comportando-se todos como ineficazes.

Porque tomavam vulto duas correntes de opinião, aparentemente em desacordo quanto à actividade relativa dos ácidos araquidónico e linoleico, HUME e colaboradores empreendem em 1940 um trabalho experimental para comparar os efeitos dos dois ácidos, concluindo ser o primeiro mais eficaz no aumento de peso; na cura das lesões cutâneas não se evidenciou, porém, superior ao segundo.

Tal como haviam já feito para diversas avitaminoses (A, B, C, D, E), LECOQ, CHAUCHARD e MAZOUÉ (1947) estendem o método cronaximétrico ao estudo das perturbações carenciais provocadas na ratazana e no pombo pela ingestão de alimentos desprovidos de gordura. O regime utilizado determina nos animais ensaiados, no curto prazo de 5 a 7 dias, uma queda das cronaxias nervosas

e uma elevação das cronaxias musculares, alterações estas que a simples adição de 2 gotas de óleo de linhaça à dieta ràpidamente suprime. A rapidez de aparecimento de tais perturbações neuro-musculares de origem encéfalo-medular e a facilidade da sua revelação pelo método cronaximétrico levam os autores a supor ser a carência de ácidos gordos essenciais mais frequente do que poderia julgar-se, pelo menos sob a forma fruste. Estes autores não hesitam em conceder a tal carência foros de avitaminose e em atribuir aos ácidos gordos essenciais a designação global de « vitamina F ».

Acerca das relações entre os ácidos gordos essenciais, os trabalhos de WIDMER e HOLMAN (1950) levam a supor ser a ratazana capaz de sintetizar o ácido araquidónico (4 duplas ligações) a partir do ácido linoleico (2 duplas ligações) mas não a partir do ácido linolénico (3 duplas ligações); inversamente, o ácido linolénico (mas não o linoleico) dará origem a um ácido com 6 duplas ligações. Depreende-se que os ácidos com 4 e 6 duplas ligações se formam de fontes dietéticas diferentes e desempenham funções também diferentes no metabolismo, a avaliar pelos desiguais efeitos sobre as manifestações da « fat deficiency ». Esta seria uma expressão carencial dupla, susceptível de cura completa pela administração de ácido linoleico (ou araquidónico) e de ácido linolénico (ou de um ácido com 6 duplas ligações).

Se bem que na maioria dos trabalhos acerca dos ácidos essenciais se tenha utilizado a ratazana (gén. *Rattus*) como animal de ensaio, noutras espécies se têm provocado os sintomas da sua carência e estudado o seu metabolismo. A incapacidade de síntese de tais ácidos gordos poli-insaturados e a sua imprescindibilidade no regime alimentar não se confinam àquele género de roedores.

O cão reage notòriamente à deficiência de ácidos gordos essenciais. HANSEN e WIESE (1943) observam nítidas alterações na pele de cachorros alimentados sem gordura desde o desmame, sendo estas manifestações externas acompanhadas de modificações notáveis no grau de insaturação dos ácidos gordos contidos no soro sanguíneo; nos animais em dieta isenta de lípidos, o índice de iodo daqueles ácidos é cerca de 25 % mais baixo que nos cachorros em condições alimentares normais. Também HANSEN e WIESE, num estudo da histologia da pele de cães alimentados com ração normal e com ração sem gordura, concluem, em 1951, que a ausência de ácidos gordos essenciais se repercute na estrutura cutânea, anali-

sada ao microscópio. As alterações patenteiam-se no estrato córneo, na derme e na epiderme.

O porco, segundo HILDITCH, LEA e PEDELTY (1939), exige a presença de ácido linoleico na alimentação para o equilíbrio do metabolismo. Já em trabalhos executados entre 1925 e 1930, ELLIS notara que o efeito mais flagrante da manutenção deste animal em regimes muito pobres em gordura era a diminuta quantidade de ácido linoleico na «body fat».

Com frangos efectuaram-se, em 1940, alguns ensaios de resultados curiosos. REISER retoma estes trabalhos e acaba por concluir que «polyunsaturated fatty acids are essential nutrients in the growth of chicks» (1950 *a*, pág. 323). Verifica (1950 *b*) que, se é impossível a estas aves sintetizar os ácidos linoleico e linolénico, conseguem, porém, a partir deles, elaborar outros de insaturação mais pronunciada (com 5 a 6 duplas ligações). São, assim, dependentes da alimentação quanto aos ácidos linoleico e linolénico; o ácido araquidónico será obtido por conversão do linolénico e, possìvelmente, do linoleico.

O cavalo e a ovelha, segundo PACINI e PACINI (1937), reagem à administração de ácidos gordos essenciais por uma melhoria no aspecto da pelagem, no primeiro caso, e na qualidade da lã, no segundo. Este efeito dos ácidos referidos explica, segundo os autores, o velho uso de adicionar linhaça à ração com o fim de melhorar a pelagem dos animais.

FRAENKEL e BLEWETT (1945) referem a necessidade de ácido linoleico e vitamina E no crescimento e desenvolvimento de algumas espécies de lepidópteros do gén. *Ephestia*. Verificam estes autores (1946) que a *E. kuehniella* Lep. sofre perturbações no seu ciclo biológico quando, na fase de lagarta, a alimentação é deficiente em ácido linoleico. A carência deste ácido determina um retardamento na eclosão e no desenvolvimento e ainda deficiências no revestimento escamoso das asas dos insectos perfeitos. A administração daquele ácido gordo logra corrigir tais pertubações. O ácido linolénico acusa sensìvelmente a mesma acção qualitativa e quantitativa, ao passo que o ácido oleico tem efeitos nulos. Os autores notam ser a acção de várias gorduras naturais sobre a cobertura escamosa estrictamente paralela ao teor respectivo em ácido linoleico. Em comunicação subsequente (1947), referem os mesmos investigadores ter o ácido araquidónico efeito nulo no desenvolvimento alar do lepidóptero em questão, embora seja do-

tado de acção positiva no crescimento do insecto na fase de lagarta.

Como se conclui, tem sido estudada em diversos animais a acção de vários ácidos gordos sobre as múltiplas manifestações carenciais provocadas por uma alimentação destituida de lípidos.

Se bem que alguns destes ácidos hajam sido experimentados escasso número de vezes e num conjunto muito limitado de animais, tornando inviável um estudo estatístico dos resultados, é possível distribuí-los por dois tipos fundamentais, consoante a actividade manifestada. Deste modo, ter-se-á:

A) — *Ácidos gordos inactivos*

Como já os clássicos trabalhos de BURR e BURR referem e observações posteriores confirmam, os ácidos gordos saturados são incapazes de evitar ou curar as desordens orgânicas típicas de uma dieta sem gordura.

Dentre os insaturados, diversos têm sido submetidos a ensaios sem êxito. Assim, acusa ineficácia o ácido oleico, qualquer que seja a posição da dupla ligação (9:10 ou 12:13). O ácido elaidínico, seu isómero geométrico (forma *trans*), é igualmente ineficaz. Os ácidos erúcico (13-docosenóico), ricinoleico (12-hidroxioleico) e chalmúgrico revelaram acção nula, chegando o último a comportar-se como tóxico (TURPEINEN, 1938). Tal como o ácido chalmúgrico, também o ácido clupanodónico (4, 8, 12, 15, 19-docosapentenóico) não só evidenciou nulidade de acção na cura de animais carenciados como, até, certa toxicidade. Um isómero conjugado do ácido linolénico, o ácido α-eleosteárico (9, 11, 13 octadecatrienóico), submetido a ensaios curativos, revelou-se inerte (BURR, BURR e MILLER, 1932). Sem colher êxito, KARRER e KOENIG (1943) ensaiam o 9,11-octadecadienóico (isómero do ácido linoleico), o 10,13-nonadecadienóico, o 11, 14-eicosadienóico, os ácidos 2-fiténico e 2,6-fitadiénico.

B) — *Ácidos gordos activos*

Foi o ácido linoleico (9,12-octadecadienóico)



$$CH_3(CH_2)_4CH{=}CH\,CH_2CH{=}CH\,(CH_2)_7COOH$$

o primeiro a revelar-se capaz de impedir a manifestação das perturbações causadas pela ausência de gordura na dieta ou deter-

minar a sua cura, uma vez evidenciadas. Mais tarde, verificou TURPEINEN (1938) que o álcool correspondente (9, 12-octadecadienol)


$$CH_3(CH_2)_4CH = CH\ CH_2CH = CH\ (CH_2)_7CH_2OH$$

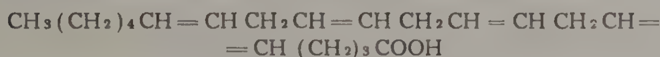
era dotado de acção análoga, embora um pouco mais atenuada.

Quanto ao ácido linolénico (9, 12, 15-octadecatrienóico)


$$CH_3CH_2CH = CH\ CH_2\ CH = CH\ CH_2CH = CH\ (CH_2)_7COOH$$

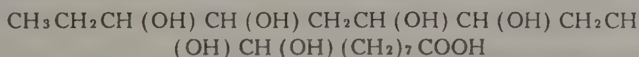
embora alguns autores lhe atribuam efeitos nulos, a maioria integra-o no grupo dos ácidos gordos indispensáveis.

O ácido araquidónico (5, 8, 11, 14-eicosatetrenóico)


$$CH_3(CH_2)_4CH = CH\ CH_2CH = CH\ CH_2CH = CH\ CH_2CH = = CH\ (CH_2)_3COOH$$

ensaiado pela primeira vez por BURR, BURR e M LLER (1932), não fornecera elementos conclusivos. Trabalhos posteriores, dentre os quais se salientam os de TURPEINEN (1938) e de HUME e colaboradores (1940), vieram, porém, demonstrar o seu carácter indispensável.

O ácido docosahexenóico, $C_{22}H_{32}O_2$, cujas 6 duplas ligações se localizam em posições ainda controversas, e o ácido hexahidroxisteárico


$$CH_3CH_2CH\ (OH)\ CH\ (OH)\ CH_2CH\ (OH)\ CH\ (OH)\ CH_2CH\ (OH)\ CH\ (OH)\ (CH_2)_7COOH$$

segundo HUME e colaboradores (1938) fazem parte dos ácidos gordos essenciais, pois determinam o aumento de peso dos animais carenciados, embora sejam de efeitos nulos na dermatose.

Pode, pois, em síntese, elaborar-se o Quadro I.

O estudo comparativo deste quadro permite conclusões curiosas.

Deduz-se que os ácidos com 2, 3, 4 e 6 duplas ligações podem, de certo modo, substituir-se mùtuamente. O 9,12-octadecadienol ou se converte no ácido correspondente (ácido linoleico) ou, por forma ignorada, o substitui. O ácido hexahidroxisteárico, não obstante ser deficientemente absorvido em virtude do seu elevado ponto de fusão, parece ser desidratado, de modo a originar um ácido insaturado eficiente. Anote-se que tal comportamento colide com o dos restantes ácidos hidroxisteáricos, de acção nula.

A análise da natureza dos ácidos englobados na primeira coluna do quadro leva a concluir que os animais sujeitos às expe-

riências são incapazes de formar os ácidos indispensáveis mediante desaturação, desidratação ou deslocamento ao longo da cadeia carbonada das duplas ligações já existentes. Infere-se a impossibilidade do organismo animal elaborar o ácido linoleico por desidrogenação dos ácidos esteárico ou oleico, embora se saiba que os

QUADRO I

Actividade dos ácidos gordos na cura ou inibição do síndroma de BURR e BURR

Efeito nulo	Efeito positivo
Ácidos gordos saturados	Ácido linoleico (9, 12-octadecadienóico)
Ácido oleico	9,12-octadecadienol
Ácido 12-oleico	Ácido linolénico (9, 12, 15-octadecatrienóico)
Ácido elaidínico	Ácido araquidónico (5, 8, 11, 14-eicosatetrenóico)
Ácido erúcico	Ácido docosahexenóico
Ácido ricinoleico	Ácido hexahidroxisteárico
Ácido chalmúgrico (a)	
Ácido dihidroxisteárico	
Ácido trihidroxisteárico	
Ácido tetrahidroxisteárico	
Ácido clupanodónico (a)	
Ácido α-eleosteárico	
Ácido 9, 11-linoleico	
Ácido 10, 13-nonadecadienóico	
Ácido 11, 14-eicosadienóico	
Ácido 2-fiténico	
Ácido 2,6-fitadiénico	

(a) — Comportou-se como tóxico

seres vivos são capazes de realizar, em certa medida, a desaturação dos lípidos.

Examinando as fórmulas de estrutura dos ácidos 10, 13-nonadecadienóico e 11, 14-eicosadienóico deduz-se, por considerações teóricas, ser possível a partir deles a formação de ácido linoleico por β-oxidação, fenómeno que KNOOP demonstrou ter lugar no metabolismo de muitos ácidos gordos. Pois aqueles ácidos foram incapazes de substituir funcionalmente o ácido linoleico (KARRER e KOENIG, 1943), como se a presença de 2 duplas ligações impedisse a actividade das enzimas que intervêm em tal tipo de oxidação.

Em face da ineficácia do ácido 12-oleico (12-octadecenóico)

depreende-se ser o organismo animal incapaz de introduzir uma dupla ligação entre os átomos de carbono 9 e 10, o que levaria à formação de ácido linoleico (9,12-octadecadienóico) (TURPEINEN, 1938).

Dentre os ácidos gordos a que se reconheceu acção preventiva ou curativa sobre o síndroma de BURR e BURR, cabe aos ácidos linoleico, linolénico e araquidónico papel proeminente nos trabalhos experimentais realizados até à data. «Linoleic, linolenic and arachidonic acids are the only ones which have been extensively worked with», escrevem BURR e BARNES (1943, pág. 259).

Como se deduz das experiências «in anima vili», os efeitos destes 3 ácidos não são rigorosamente idênticos, nem qualitativa nem quantitativamente. O ácido linolénico determina algum crescimento nos animais carenciados mas não cura as desordens cutâneas. Os ácidos linoleico e araquidónico são de efeitos mais acentuados: curam as lesões dérmicas e promovem o crescimento. Ainda segundo os autores acima referidos, «it is clear that linoleic and arachidonic are much alike while linolenic is inferior» (1943 pág. 259).

3 — NOMENCLATURA

As expressões «ácidos gordos essenciais» e «ácidos gordos indispensáveis» surgiram com os primeiros trabalhos de BURR e BURR. Mas porque o efeito fisiológico destes ácidos insaturados, eminentemente qualitativo, se assemelhasse ao das vitaminas, resultaram para os ácidos em questão as designações genéricas de «vitamina F» (pelo facto da sua descoberta vir após a da vitamina E), «vitamina F_0», «vitamina F_1» e, ainda, «vitamina antiseborreica».

Não vieram, porém, estas últimas expressões a ser unânimemente aceites, mantendo-se ainda hoje controvérsia acerca da inclusão de tais ácidos no quadro das vitaminas. Entendendo por «vitaminas», como faz KARRER, todas as substâncias cuja ausência na dieta determina manifestações carenciais, não há dúvida que na definição cabem, ao lado dos amino-ácidos e dos elementos essenciais, aqueles ácidos gordos insaturados. Mas tal conceito engloba toda a substância alimentar qualitativamente indispensável, perdendo assim o vocábulo aquele sentido restrito em que é tido pela generalidade dos bioquímicos e dos médicos. Abrangendo na acepção de «vitamina», como propõe MAIA DE LOUREIRO (1941, pág. 6), todos os essenciais da nutrição que não sejam minerais

nem amino-ácidos, é indubitável que os ácidos gordos em questão se integram em tal conceito. Mas se a noção de vitamina exclui as substâncias com funções plásticas, então aos ácidos gordos essenciais não se ajusta tal designação.

De modo geral, os autores alemães e franceses aceitam sem relutância a designação de «vitamina F», enquanto nos trabalhos em língua inglesa é mais frequente a expressão «essential fatty acids». LECOQ, CHAUCHARD e MAZOUÉ (1947) são de parecer que o comportamento fisiológico dos ácidos gordos essenciais justifica plenamente a designação sinónima de «vitamina F». Os elementos experimentais colhidos «montrent qu'on aurait tort de ne pas reconnaître aux acides gras non-saturés... le caractère propre des vitamines, et la désignation de vitamine F qui leur fut attribuée convient parfaitement» (pág. 726). Concluindo, opinam que a carência de ácidos gordos essenciais «mérite d'être rangée dans le groupe des avitaminoses et le nom de vitamine F désignant les acides linoléique et linolénique se trouve pleinement justifié» (pág. 727). Uma opinião diametralmente oposta é expressa por BRODE (1946), para quem é errónea a inclusão dos ácidos gordos essenciais no quadro das vitaminas. «There has been some tendency to class incorrectly as vitamins certain of the unsaturated fatty acids such as arachidonic, linolenic and linoleic acids...», escreve este autor (pág. 280).

Propondo um conceito novo, procurou ROSENBERG aplanar as discordâncias. Para os compostos necessários em quantidades mínimas ao crescimento e vida normais dos animais superiores e que, como as vitaminas, não são sintetizados por processos anabólicos, estabelece este cientista a designação de «vitagénios». Diferem dos factores vitamínicos pelo facto de actuarem como unidades estruturais e como materiais energéticos; a eles se assemelham por interferirem na regulação do metabolismo e na utilização da energia libertada pelos alimentos. Se as exigências diárias em vitaminas se cifram nalguns miligramas sòmente, os vitagénios são necessários em doses bastante maiores. Diversas substâncias cabem neste conceito: certos glucidos essenciais, amino-ácidos indispensáveis, a colina, alguns compostos orgânicos sulfurados, além dos ácidos gordos essenciais. É controverso se estes podem ou não ser considerados vitaminas mas já não suscita dúvidas a sua inclusão no novo conceito definido por ROSENBERG. Com efeito, são necessários em quantidades diminutas, actuam como elementos

plásticos, pois são unidades estruturais de muitos fosfatídeos, e desempenham o papel de agentes catalíticos no mecanismo transformador de energia.

4 — Função dos Ácidos Gordos Essenciais. Hipóteses

Se, de modo geral, em todos os capítulos da bioquímica dos ácidos gordos essenciais subsistem inúmeros pontos duvidosos, no que respeita ao aspecto particular do mecanismo de acção de tais ácidos na fisiologia animal não se foi, pràticamente, além do domínio das hipóteses. Em 1938, NUNN e MACLEAN tentam esclarecer o delicado problema e, de acordo com os seus ensaios, os ácidos linoleico e linolénico seriam unidades imprescindíveis para a elaboração de outros ácidos mais insaturados, com funções na deposição dos lípidos. Este trabalho veio servir de apoio à opinião ulteriormente defendida de que os ácidos linoleico e linolénico são, sòmente, precursores do ácido araquidónico e de que é este último o fisiològicamente activo e, portanto, o mais importante.

Em 1939, SKRAUP, STRIECK e SHORN aduzem a hipótese de se comportarem os ácidos gordos essenciais como um factor de utilização dos lípidos, desempenhando as funções de transportadores de hidrogénio, pois verificaram estes autores que tais ácidos catalisam « in vitro » a combustão das gorduras. A possibilidade do comportamento referido é apoiada por WINTER (1942).

Após observações realizadas em 1950, VIOLLIER e colaboradores concedem aos ácidos referidos um papel preponderante na absorção e deposição dos lípidos. No mesmo ano, DECKER e colaboradores admitem a possibilidade de estarem os ácidos gordos indispensáveis intimamente relacionados com o processo de formação de novas células.

Apoiando-se nos trabalhos que reconhecem aos ácidos gordos essenciais a função de material de construção para certos constituintes celulares dos animais em crescimento, LE BRETON (1949) aduz curiosa hipótese, que está servindo de base a ensaios em curso. Segundo esta investigadora, aqueles constituintes celulares fariam parte do tecido nervoso. Na realidade, as exigências dos animais adultos em ácidos gordos indispensáveis não assumem nunca o carácter imperioso que revestem no animal jovem, ainda em fase de crescimento. As necessidades em tais ácidos são con-

sideráveis durante o período de vida fetal e, após o nascimento, diminuem gradualmente. Destes factos depreendeu LE BRETON que os constituintes orgânicos de que tais ácidos fazem parte devem pertencer a um tecido cujas células se não renovam. Ora, os estudos histológicos há muito demonstraram que o número de células nervosas se estabiliza bastante cedo e que a sua duração acompanha a do ser vivo. É certo que nestas células alguns componentes são temporários e continuamente sintetizados mas outros poderiam existir — sugere a autora — com duração muito mais dilatada e com um «turnover» típico. A estes componentes celulares pertenceriam o ácido linoleico e, sobretudo, o ácido araquidónico. Em abono desta conjectura ocorre a circunstância de não se verificarem alterações nos ácidos gordos do cérebro quando na dieta são introduzidos lípidos não habituais e insaturados. Exceptuando os corpos gordos do cérebro, todos os outros denunciam aquela adição. Se durante o crescimento o animal enfrenta uma carência dietética nos ácidos gordos essenciais, impossibilitado de realizar a sua síntese, recorrerá às reservas contidas nos tecidos e os múltiplos sintomas da carência sobrevêm, uma vez esgotadas aquelas reservas orgânicas. Sendo assim, a integridade cutânea, a normalidade do crescimento do animal jovem, etc., encontram-se dependentes do sistema nervoso.

Ao complexo problema do papel fisiológico dos ácidos gordos indispensáveis anda estrictamente associada outra questão, do mesmo modo nebulosa: qual a característica estrutural comum responsável pelos efeitos destes compostos? Não se esclareceu ainda quais as particularidades moleculares que conferem a uma substância poder curativo ou inibitório sobre o síndroma de BURR e BURR.

Dentre as substâncias activas (Quadro I) conta-se o 9, 12-octadecadienol, facto que permite deduzir a prescindibilidade do grupo carboxílico, substituível por um grupo alcoólico embora com ligeira atenuação da potência, como se referiu.

Crê-se estar o mecanismo da actividade ligado à presença de um mínimo de 2 duplas ligações na molécula. Tenha-se presente, de facto, a total ineficácia dos ácidos saturados e dos ácidos mono--etenóides (caso dos ácidos oleico, ricinoleico, erúcico).

Mas o mecanismo de acção dos ácidos gordos essenciais não deve estar relacionado sòmente com a presença de 2 ou mais ligações etilénicas, porquanto são inactivos, por exemplo, o ácido

α-eleosteárico e o ácido clupanodónico, dotados, respectivamente, de 3 e 5 duplas ligações. Tudo leva a crer que a posição destas na cadeia carbonada seja particularidade com reflexos no efeito fisiológico dos ácidos indispensáveis. Ao que parece, a posição conjugada das ligações etilénicas não se coaduna com o carácter « essencial ». Assim, enquanto o ácido linolénico (9, 12, 15-octadecatrienóico) se conta no número dos ácidos activos, o ácido α-eleosteárico (9, 11, 13-octadecatrienóico), seu isómero conjugado, revelou-se ineficaz. De modo análogo, sendo o 9, 12-octadecadienóico dotado de notável eficiência, o 9, 11-octadecadienóico é destituido de acção.

A actividade dos ácidos indispensáveis supõe-se, ainda, ligada à existência de uma cadeia carbonada normal, de configuração *cis*; verificou HOLMAN (1951) que os isómeros *trans* dos ácidos linoleico e linolénico não curavam os típicos sintomas da carência.

As moléculas dos ácidos linoleico e linolénico encerram ligações etilénicas nas posições 9 : 10 e 12 : 13. Estas duplas ligações seriam, segundo TURPEINEN (1938), as características responsáveis pela acção destes ácidos, mas tal ponto de vista briga com a estrutura do ácido araquidónico, com as ligações etilénicas nas posições 5 : 6, 8 : 9, 11 : 12 e 14 : 15.

5 — Os Ácidos Gordos Essenciais e as Vitaminas B e E

A) — *Relações com o complexo B*

Na época da descoberta dos ácidos gordos essenciais pouco ou nada se conhecia de uma série de factores do complexo B. A individualização e estudo destes factores hidro-solúveis veio pôr em foco manifestações carenciais até então desconhecidas e logo diversos autores com elas pretenderam identificar os sintomas das desordens orgânicas descritas por BURR e BURR. O síndroma provocado pela ausência de ácidos gordos insaturados na dieta confundir-se-ia com as avitaminoses correspondentes àqueles factores, deixando assim de ter justificação o atributo de « essenciais » concedido a tais ácidos. Porém, as investigações já realizadas permitem reconhecer aos ácidos indispensáveis uma acção peculiar e insubstituível. Escreve BERNHARD (1948, pág. 260): « Avec la découverte des vitamines du complexe B, différents auteurs crurent pouvoir identifier les symptômes découverts par BURR et BURR avec ceux provoqués par la carence en pyridoxine, acide pantothénique

ou l'amide de l'acide nicotinique. Il est inutile d'insister sur ces travaux, vu que l'action spécifique des acides gras essentiels est bien établie».

Vão-se, no entanto, acumulando provas da existência de relações entre os ácidos gordos indispensáveis e as vitaminas do complexo B. Tal conexão, ainda muito nebulosa, parece ser do tipo sinérgico. Na presença dos ácidos essenciais há uma economia de factores B e recìprocamente.

LE BRETON (1949) admite a possibilidade da síntese dos ácidos gordos essenciais em presença do complexo B, pois os seus trabalhos permitiram-lhe reconhecer a certos elementos deste complexo o caracter de co-dehidrogenases dos ácidos gordos superiores. A carência daquelas vitaminas B, impossibilitando a desaturação dos ácidos gordos superiores, acarretaria a falta dos ácidos linoleico e araquidónico, que se tornariam «indispensáveis» na medida daquela carência. Um trabalho de BARKI e colaboradores (1949) corrobora, em certa medida, esta hipótese.

B) — *Relações com a vitamina E*

Sugerem alguns ensaios a existência de acções dos tocoferóis sobre o efeito dos ácidos gordos essenciais. Assim, HOVE e HARRIS (1946) referem um notável aumento da eficiência curativa do linoleato de metilo alcançado pela suplementação com tocoferol, parecendo este exercer uma acção economizante sobre aquele, talvez mediante protecção das duplas ligações. Quando os animais carenciados em ácidos indispensáveis são obrigados a ingerir apenas tocoferol, sem o ácido curativo, nota-se um agravamento das manifestações deficitárias.

Em desacordo com estas observações, não puderam DEUEL, ANISFELD e GREENBERG (1951) encontrar qualquer correlação entre as exigências em ácidos gordos essenciais e em tocoferóis.

6 — Exigências Orgânicas em Ácidos Gordos Essenciais

É a ratazana a única espécie animal suficientemente estudada quanto às exigências quantitativas em ácidos indispensáveis. Não obstante, é impossível referir valores absolutos para as doses óptimas, curativas ou preventivas. Provocado o síndroma carencial típico, verifica-se que uma dose diária de ácido linoleico ou ara-

quidónico inferior a 5 mg. não determina qualquer reacção curativa definida, enquanto uma dose de 10 a 15 mg. do primeiro ácido permite já uma nítida recuperação, num prazo de 4 a 6 semanas. Em ensaios com carácter curativo, o máximo efeito sobre o crescimento dos animais carenciados foi alcançado, consoante os investigadores, com doses de ácido linoleico entre 20 e 100 mg. diários. Em 1950, DEUEL e colaboradores verificam exceder 50 mg. diários a dose curativa de ácido linoleico exigida pelos machos, enquanto às fêmeas basta por dia uma quantidade entre 10 e 20 mg. As exigências dos dois sexos seriam, pois, diferentes.

Do ponto de vista profilático, uma dose de 20 mg. de ácido linoleico, ministrada diàriamente durante o período de crescimento da ratazana, demonstrou ser suficiente para cobrir as necessidades orgânicas normais do animal.

Para os animais jovens, as exigências em ácido linoleico são menores, facto explicável pelo fornecimento deste ácido através das mães. É de tal modo pronunciado este efeito que a longevidade das ratazanas jovens, colocadas em regime isento de lípidos, se pode dilatar de 4 para 14 meses mediante a simples substituição, na dieta das mães, do óleo de coco (I.I.: 10) pelo óleo de milho (I.I.: 124).

Sabe-se ainda que as exigências em ácidos indispensáveis variam com a natureza da ração, aumentando, ao que parece, com a quantidade de gordura contida nos alimentos.

Admitindo que a dose mínima de ácido linoleico é de 100 mg. por dia e que a ratazana ingere 10 g. diários de alimento, a exigência naquele ácido indispensável pode computar-se, segundo BURR (1945), em cerca de 1 % da dieta.

II — OS ÁCIDOS GORDOS ESSENCIAIS NA NUTRIÇÃO HUMANA

1) Observações Clínicas de Dietas Pràticamente Isentas de Lípidos

São escassas as informações dos efeitos, em seres humanos, de uma alimentação por longo tempo destituída de lípidos. Sobre o comportamento de indivíduos mantidos em dietas muito pobres em gordura, reduzidas e inconcludentes observações se registam até 1935. Neste ano, HOLT manteve durante vários dias três crianças, cujas idades iam de 4 a 6 meses, num regime alimentar que veiculava, sòmente, 1 g. de gordura por dia. Numa delas manifestou-se

uma erupção eczematosa, que se desvaneceu quando à dieta foi adicionada gordura, para voltar a instalar-se logo que esta foi de novo suprimida. HOLT chamou a atenção para o facto, que não considerou meramente casual.

BURR e colaboradores (1938) procuram investigar a repercussão, sobre um adulto saudável, de um regime alimentar pràticamente desprovido de gorduras. Um dos cientistas sujeita-se, durante 6 meses, a tal regime, sendo simultâneamente administrada a mesma dieta a ratazanas jovens, na proporção das suas exigências calóricas. Em todos os animais se instalou, decorridas 6 semanas, o típico síndroma da «fat deficiency». No indivíduo em observação, registou-se uma perda moderada no peso, não obstante uma ingestão de calorias reputada suficiente. A taxa do metabolismo basal e, sobretudo, o cociente respiratório sofreram alterações paralelas às ocorridas nos animais. Quanto aos efeitos da dieta sobre os lípidos do soro, registou-se no índice de iodo dos ácidos gordos totais um abaixamento considerável. Esta diminuição no grau de insaturação de tais lípidos em consequência de uma dieta pobre em gorduras vem confirmar no ser humano fenómeno análogo observado por diversos autores noutras espécies animais. Relacionada com este facto, anotou-se uma diminuição no teor do soro em ácidos linoleico e araquidónico, como se regista no Quadro seguinte:

QUADRO II

Teor do soro em ácidos gordos essenciais

Dieta	Ácido linoleico (% total ácidos gordos)	Ácido araquidónico (% total ácidos gordos)
Normal	5,7	3,2
Pobre em gordura . . . (após 6 meses de sujeição)	3,2	1,87

Discutindo os resultados obtidos, BURR e colaboradores deduzem que o ser humano é incapaz de elaborar os ácidos gordos poli-insaturados, pelo menos em doses suficientes para que o seu teor no soro se mantenha no nível acusado com uma alimentação normal. Em face da semelhança de reacções do adulto e dos ani-

mais testemunhas, são os autores levados a crer que aquele acabaria por evidenciar, clìnicamente, perturbações carenciais, se o regime alimentar sem gordura subsistisse por um prazo maior. Em síntese, concluem (pág. 523) que: «it cannot be assumed that the human subject could subsist indefinitely on a diet completely devoid of the unsaturated fatty acids».

Em 1944, uma circunstância acidental permitiu a HANSEN e WIESE o estudo das consequências da dieta humana destituída de lípidos. Uma criança portadora de doença do aparelho digestivo que aconselhava a supressão de gorduras no regime alimentar manteve-se desde as 3 semanas até aos 23 meses de idade em dieta isenta daquelas substâncias e dos vários factos clínicos observados o mais curioso relacionava-se com a pele. Por volta dos 8 meses manifestou-se uma dermatose persistente; ao atingir um ano de idade desenvolveram-se manchas eczematosas no tronco e no rosto.

Segundo BURR e HANSEN (1946, pág. 855), «the likelihood that a human infant would subsist for a prolonged period of time on a diet practically devoid of fat, yet complete as regards other known dietary essentials, is practically nil».

2) Os Lípidos e as Dermatoses

De modo geral, os trabalhos empreendidos no sentido de averiguar a repercussão sobre o organismo humano de uma dieta desprovida de gorduras registam um abaixamento, avaliado pelo índice de iodo, do grau de insaturação dos lípidos do soro, corroborando assim fenómeno análogo ocorrido noutros animais. No caso de seres humanos, ao regime sem gorduras andam também associadas manifestações cutâneas, facto de harmonia com as primitivas observações de BURR e BURR, depois amplamente confirmadas em animais de laboratório. Destas duas circunstâncias se aduziu a existência de relação entre o teor do soro em lípidos insaturados e a ocorrência de dermatoses do tipo eczematoso. Os termos desta relação ainda não se encontram completamente esclarecidos, apesar dos factos clínicos já anotados.

Assim, nos casos de estearreia prolongada, em que a gordura é suprimida da dieta, anotam-se com frequência anormalidades cutâneas. O mesmo se verifica nos casos de síndroma celíaco.

Em 1932, BENNETT, HUNTER e VAUGHAN registam erupções cutâneas em 7 casos de estearreia idiopática, acentuando que «the frequent

occurrence of skin lesions appears too striking to be mere coincidence» (cit. BURR & HANSEN, 1946, pág. 858). KONSTAM e GORDON, em 1936, anotam facto idêntico. Em 1939, RILEY descreve um quadro clínico análogo.

Numa comunicação de 1944, LUZZATTI e HANSEN referem observações curiosas. De 10 crianças em que se havia diagnosticado o síndroma celíaco, 3 exibiam lesões eczematosas. O estudo dos lípi-

QUADRO III

Teor do soro em ácidos gordos essenciais

	Ácido araquidónico (% total ácidos gordos)	Ácido linoleico (% total ácidos gordos)
Média de 35 indivíduos saudáveis	2,83	4,80
Média de 12 indivíduos saudáveis	2,90	5,20
Média de 18 crianças eczematosas . . .	1,34	3,20
Média de 8 adultos eczematosos . . .	1,60	4,20

dos sanguíneos sugere para a maioria dos doentes a carência de uma gordura específica. Nos 10 indivíduos, era anormalmente baixo o I.I. dos ácidos gordos do soro, oscilando entre 70 e 86, enquanto em crianças normais da mesma idade ia de 98 a 113. Porque o teor em ácidos gordos dos lípidos do sangue era sensìvelmente o normal e sòmente o grau de insaturação se exprimia por valores acentuadamente baixos, concluiram os autores, uma vez mais, que os pacientes podiam sintetizar os ácidos saturados mas eram incapazes de elaborar os ácidos insaturados, pelo menos em quantidades suficientes para assegurar o nível normal da insaturação no sangue.

BROWN e HANSEN (cit. BURR & HANSEN, 1946) empenham-se em determinar o teor em ácidos linoleico e linolénico nos lípidos do soro de indivíduos sãos e portadores de eczema. Estes últimos doseiam aqueles ácidos indispensáveis em quantidades menores, como se evidencia no Quadro III.

Também FINNERUD, KESLER e WIESE (cit. BURR & HANSEN, 1946), num

estudo sobre 180 crianças com eczema e 150 crianças normais, concluem não haver diferença entre os dois grupos no teor total de gordura do soro, mas ser nìtidamente menor o grau de insaturação dos ácidos gordos sanguíneos nos indivíduos eczematosos. Com um I.I. abaixo dos valores normais, registaram 82 % das crianças com menos de 2 anos, 74 % das crianças de 2 a 15 anos e 55 % daquelas com idade superior. Deduz-se serem as modificações mais pronunciadas nas primeiras idades. A essência destes factos é confirmada por outros investigadores, como FABER, ROBERTS, SCHORNSTEIN.

Em contrapartida, GINSBERG, BERNSTEIN e IOB e, ainda, TAUB e ZAKON, não encontram diferença nos I.I. dos ácidos gordos do soro de crianças saudáveis e de crianças eczematosas, mas pode supor-se, sugere outro investigador (DEUEL), que tenham considerado eczemas doutro tipo.

A) — *Acção dos ácidos gordos essenciais*

À semelhança do que se verifica nos trabalhos com animais de laboratório, também no caso humano os lípidos insaturados manifestam acção curativa, mais ou menos pronunciada, sobre algumas perturbações cutâneas.

Já em 1933, HANSEN notara efeitos indubitàvelmente benéficos sobre os eczemas infantis quando suplementada a dieta com gorduras ricas em ácidos indispensáveis. CORNBLEET e PACE, em 1935, GINSBERG, BERNSTEIN e IOB, em 1937, FINNERUD, KESLER e WIESE, em 1941, concluem que a junção de gorduras ricas em ácidos linoleico e araquidónico (óleo de milho, óleo de linhaça, toucinho fresco) ao regime alimentar de indivíduos eczematosos determina, na maioria dos pacientes, nítida melhoria do estado cutâneo e, nalguns casos, basta para a cura total. A reacção dérmica em face dos ácidos indispensáveis adicionados à dieta é manifesta sobretudo nos indivíduos em que o I.I. dos lípidos sanguíneos é bastante inferior ao normal. A recuperação do aspecto saudável da pele é nestes casos acompanhada da elevação do I.I. para o nível habitual.

HANSEN e colaboradores (1947), num estudo clínico e laboratorial, verificaram que o recurso à administração de ácidos gordos essenciais, como única forma de terapia aplicada a 148 pacientes, provocou uma reacção cutânea classificada de boa a excelente em 60 casos, de regular a boa em 51 e ligeira ou nula nos restantes 37.

Anotou-se a reacção mais favorável no grupo dos indivíduos mais novos. Os ácidos indispensáveis foram veiculados através de banha, toucinho, óleo de milho ou óleo de linhaça adicionados à dieta. À medida que o estado clínico melhorava, notava-se um aumento no I. I. dos ácidos gordos do soro.

São os autores levados a crer que a suplementação de gorduras ricas em ácidos insaturados, como o toucinho e certas gorduras vegetais, é de benéficos efeitos na maioria dos casos de eczema, sobretudo em crianças. Acentuam, contudo, não poder tal terapêutica substituir por completo os tratamentos locais, devendo ser encarada como um valioso adjuvante dos métodos normais de tratamento. Os resultados deste trabalho sugerem a conclusão de que os ácidos gordos essenciais têm como papel assegurar a nutrição normal do tecido cutâneo e manter-lhe a integridade.

Em 1948, CHARPY, apoiado numa experiência pessoal colhida em 3 anos de observações e em mais de 1200 casos estudados, propõe um esquema geral de terapêutica do eczema infantil que afirma alcançar resultados decisivos em mais de 80 % dos casos. Envolve tal esquema a administração por via oral de ácidos gordos essenciais (óleo de linhaça, toucinho) que determinam, quando em quantidade suficiente, a melhoria ou cura das manifestações eczematosas. Alguns componentes do complexo B (piridoxina, ácido pantoténico, amida nicotínica), simultâneamente adicionados, têm um efeito sinérgico, permitindo economizar na dose daqueles ácidos poli-insaturados. Está este facto de acordo com o ponto de vista defendido por LE BRETON (1949).

É convicção de CHARPY (1948, pág. 411) que «le problème des acides gras non saturés est à la base du terrain cutané eczémateux, dans 80 % des cas chez l'enfant et chez l'adulte».

Em trabalho publicado no mesmo ano, AZERAD e GRUPPER referem também alguns casos de eczema infantil tratados pela ingestão de gorduras ricas em ácidos indispensáveis, com resultados muito favoráveis.

MENON e colaboradores registam, em 1950, que a hiperceratose folicular, em regra atribuida a avitaminoses, foi tratada com êxito pela administração de óleo de gergelim, rico em ácido linoleico. Os autores inclinam-se a atribuir aquela perturbação a uma deficiência de ácidos gordos essenciais e não a carência de vitaminas A, B ou C. Anote-se que a cura dos indivíduos doentes foi acompanhada da elevação do I. I. dos ácidos gordos do plasma.

Numa comunicação também de 1950, POTTENGER atribui a ocorrência de ligeiras dermatoses, muito frequentes nalgumas regiões dos E. U., a uma deficiência de ácidos gordos insaturados. Relaciona a observação do facto com os possíveis efeitos da eliminação do germe nas farinhas de trigo e do tecido adiposo nas carnes consumidas. Invoca, ainda, a larga difusão na cozinha americana de gorduras hidrogenadas, quase isentas, como é evidente, de ácidos insaturados. Com um regime rico em ácidos linoleico, linolénico e araquidónico, as afecções cutâneas desaparecem num prazo de 60 dias, refere o autor.

As fotografias abaixo, devidas a BURR, ilustram, de modo sugestivo, os resultados alcançados no tratamento do eczema infantil pela administração de ácidos gordos indispensáveis.



A fotografia da esquerda mostra o aspecto de uma criança com 6 meses de idade, portadora de eczema desde os dois meses e meio. Na fotografia da direita, a mesma criança 6 meses após a inclusão de toucinho na dieta. A cura das lesões cutâneas foi completa.

Não deixa de ser curioso observar que o eczema infantil é

muito mais frequente nas crianças alimentadas artificialmente que naquelas amamentadas ao peito. Puderam GRULEE e SANFORD (1936) concluir, após 5 anos de estudos em cerca de 20.000 crianças, que para o primeiro tipo de alimentação a frequência do eczema era 7 vezes superior à verificada para o segundo.

Poderá esta circunstância relacionar-se com o mais elevado teor do leite da mulher em ácidos linoleico e araquidónico em relação ao leite de vaca? Para o primeiro, referem BROWN e ORIANS (1946) um teor de 10,3 a 10,4 % de ácido linoleico e 0,8 % de ácido araquidónico, enquanto o leite de vaca doseia 2,5-5,8 % do primeiro e 0,3-0,4 % do segundo.

Também BROWN e colaboradores verificaram que o teor em ácidos linoleico e araquidónico do leite de mães que amamentavam crianças portadoras de eczema era menor que o do leite das mães cujos filhos não denunciavam qualquer perturbação cutânea.

Se, apesar dos trabalhos já realizados, as relações entre os ácidos gordos essenciais e as perturbações cutâneas se revestem ainda de numerosas incertezas, levando alguns investigadores a não abandonar, prudentemente, o domínio das hipóteses, fàcilmente se compreende o carácter precário dos conhecimentos relativos a outras eventuais funções daqueles ácidos no metabolismo humano.

CORNBLEET admite possível relação entre os ácidos indispensáveis e certas manifestações de carácter alérgico; aventa a hipótese de estarem relacionados com a alergia alguns tipos de eczema, curáveis pela ingestão de gorduras ricas em ácidos essenciais. Na realidade, em 1938, verificaram HERLITZKA e MONTUORI que em certas perturbações alérgicas diminui o teor em ácidos gordos insaturados e que a suplementação do regime com ácidos linoleico e linolénico eleva o I.I. e determina a desaparição dos sintomas. Até ao presente, porém, não se conseguiu assegurar a existência das relações entre a alergia e os ácidos essenciais.

Em 1941, HART e COOPER anotam o facto da administração de ácidos gordos essenciais a seres humanos provocar no sangue um abaixamento do teor em cálcio e uma elevação do teor em fósforo e em iodo. Para este último elemento, a subida foi da ordem dos 300 %, circunstância que sugere a estes autores a possibilidade de uma relação funcional entre os ácidos indispensáveis e a tiróide. Tal hipótese encontra certo apoio quando se nota que a administração de tiroxina provoca a eliminação de cálcio.

HAWKINS verificou não ser o fósforo orgânico absorvido do intestino humano quando os ácidos gordos essenciais estavam ausentes, possìvelmente porque estes interferem com a permeabilidade das paredes celulares.

Da revisão da bibliografia médica sobre o aspecto humano do problema dos ácidos gordos essenciais ressaltam, como conclusões primárias, a escassez e a incerteza dos conhecimentos. Os casos clínicos estudados, já pela complexidade dos sintomas, já pelo reduzido número de indivíduos considerados, não permitem estruturar ilacções seguras. É certo que no homem algumas das manifestações da ausência de ácidos gordos essenciais no regime alimentar se identificam com as expressões carenciais dos animais de laboratório, mas ocioso se torna acentuar a circunspecção que deve revestir o transporte de deduções do campo laboratorial para o domínio da fisiologia humana.

Tudo induz, contudo, a concluir que, na realidade, os ácidos gordos essenciais desempenham no organismo humano uma acção fisiológica «sui generis» e que não deve ser possível ao homem realizar a síntese destes compostos.

Conquanto as observações clínicas realizadas até agora não tenham revelado que a carência de tais ácidos provoque em seres humanos perturbações no crescimento, na lactação, na reprodução, lesões renais, hematúria, como sucede nos animais sujeitos a experiência, parece indubitável que o seu metabolismo anda associado à integridade cutânea. Aludindo ao caso do homem, escreve BERNHARD (1948, pág. 264): «Il semble que l'intégrité de sa peau dépende en partie des acides gras essentiels que seule sa nourriture peut lui fournir».

Segundo BURR (1945, pág. 80), «there is good evidence that these acids play an important role in human physiology». Computando as exigências em ácido linoleico em cerca de 1 % da dieta, admite o mesmo autor que o consumo individual de tal ácido seja, em muitos casos, inferior àquela percentagem. Escreve: «Although the results with human subjects are not so uniform as those with experimental animals under controlled conditions, it seems clear that many people are receiving less than their optimal requirement of linoleic acid». E conclue: «It is not surprising, therefore, that there are individuals who, because of low intake or abnormally high requirement, respond to additional unsaturated fatty acids in their diet».

No entanto, porque as exigências orgânicas do adulto nestes ácidos são assaz diminutas e o regime alimentar normal os contém em quantidade suficiente, não são de temer, na generalidade dos casos, as manifestações carenciais. Já no caso da criança é muito verosímil que uma deficiência destes ácidos, causada por uma alimentação desequilibrada, possa reflectir-se, de modo nefasto, no metabolismo.

Perante os factos clínicos e estudos médicos que se deixam sumàriamente referidos, o «National Research Council» dos E. U. (1948) recomenda a inclusão dos ácidos indispensáveis na dieta, na dose mínima diária de 1 % do total de calorias.

MATERIAL

O material utilizado é constituido por amostras das gorduras alimentares mais comuns no nosso país. Na metrópole são consumidas o azeite, o óleo de amendoim, o óleo de coco (gorduras de origem vegetal), a manteiga, a banha (gorduras de origem animal) e ainda a margarina. Consideraram-se as seguintes amostras-tipo:

Amostra 1 — Óleo de palma
Proveniência: Angola
Amostra 2 — Óleo de amendoim
Proveniência: Guiné
Amostra 3 — Óleo de gergelim
Proveniência: Angola
Amostra 4 — Óleo de coco (refinado)
Proveniência: Moçambique e S. Tomé
Amostra 5 — Azeite
Tipo «extra»
Amostra 6 — Manteiga
Tipo «meio-sal»
Amostra 7 — Banha de porco
Amostra 8 — Margarina
Tipo «Deliciosa» (Fáb. Imp. de Margarina)

MÉTODO

Na pesquisa e doseamento dos ácidos gordos essenciais recorreu-se ao método espectrofotométrico que a «American Oil Che-

mists'Society» (1949) preconiza para a análise de ácidos poliénicos em gorduras. Este método baseia-se, fundamentalmente, nos trabalhos de MOORE (1933, 1937), de BRADLEY e RICHARDSON (1942), de MITCHELL, KRAYBILL e ZSCHEILE (1943), de BEADLE e KRAYBILL (1944), de BRICE e SWAIN (1945) e o seu valor como ferramenta analítica aplicada aos lípidos vem-se acentuando dia a dia, pois não só conduz a uma determinação rigorosa dos ácidos poli-insaturados como permite denunciar a ocorrência natural das suas formas conjugadas. A importância e o interesse da análise espectrográfica dos ácidos gordos (na zona ultravioleta) salientam-se sobretudo em duas circunstâncias: a) — no caso de proporções muito reduzidas dos componentes poli-insaturados individuais, pois consegue denunciar a presença de ácido araquidónico na proporção de 0,01 % e a de ácidos linoleico e linolénico em teores anàlogamente diminutos, b) — no caso de existência simultânea de ácidos gordos conjugados e não conjugados.

Ter-se-á presente a alta importância que assume, na análise espectrofotométrica dos ácidos gordos, o facto de cada sistema de ligações etilénicas conjugadas exibir um máximo de absorção característico. Com efeito a conjugação diénica é denunciada por uma absorção característica a 233 mμ; a conjugação triénica identifica-se por uma absorção específica a 268 mμ e a conjugação tetrénica é evidenciada pela absorção a 315 mμ. Deste modo, a localização, no espectro, da zona de absorção típica define o número de duplas ligações conjugadas na cadeia carbonada e a intensidade dessa absorção, avaliada pelo coeficiente de extinção (ou de absorção), fornece uma medida da quantidade do ácido existente na amostra de gordura considerada. Em concordância com estes factos, verificou VAN DER HULST (1935) que o 9,12-linoleato de metilo (duplas ligações isoladas) não exibia absorção específica, enquanto o 9,11-octadecadienóico (isómero conjugado do ácido linoleico) patenteava um máximo característico, devido à conjugação diénica, a cerca de 230 mμ. Paralelamente, também o ácido linolénico não revela absorção específica, ao passo que o ácido eleosteárico, seu isómero conjugado, determina uma absorção nítida, associada à conjugação triénica, na região do espectro entre 260 e 280 mμ. MOWRY, BRODE e BROWN (1942) observaram a carência de absorção específica do ácido araquidónico (5, 8, 11, 14-eicosatetrenóico) na região ultravioleta. Submetido, porém, tal ácido a um tratamento alcalino a temperatura elevada, concluiram que o

deslocamento das duplas ligações para posição conjugada originava um isómero com absorção característica. No método seguido no presente trabalho assume notável interesse este efeito do tratamento térmico-alcalino conhecido desde os ensaios de MOORE. Com efeito, já em 1933 MOORE e DANN haviam submetido gorduras a uma prolongada saponificação com potassa alcoólica e concluido poder tal tratamento deslocar, de modo estável, as ligações etilénicas de posições isoladas para posições conjugadas, fenómeno que se evidenciou pelo aumento considerável da absorção em certas zonas do espectro ultravioleta. Posteriormente, MOORE (1937) confirma ser o incremento da absorção devido à formação de isómeros conjugados e refere o isolamento de ácido eleosteárico a partir dos ácidos do óleo de linhaça (rico em ácido linolénico) tratado pelo alcali. As conclusões de MOORE têm sido confirmadas repetidas vezes e a elas se deve, sem dúvida, grande impulso na aplicação da espectrografia ultravioleta ao estudo dos ácidos gordos poli-insaturados.

No método espectrográfico proposto por MITCHELL, KRAYBILL e ZSCHEILE (1943) para a análise dos ácidos linoleico e linolénico e na sua generalização ao ácido araquidónico, sugerida por BEADLE e KRAYBILL (1944), utiliza-se na isomerização destes ácidos uma solução 1,3 N de OHK em glicol etilénico, mantida a 180° C. durante 25 minutos. A Comissão de Espectroscopia da «American Oil Chemists' Society» (1949), no método proposto para a análise dos ácidos poli-insaturados em gorduras, perfilha este tratamento isomerizante. Não é indiferente a concentração do alcali, como se põe em relevo nos ensaios de PETTER e KUMMEROW (1950). Alguns autores, como BRICE e SWAIN (1945), advogam o uso de glicerina em substituição do glicol etilénico mas os trabalhos de HILDITCH, PATEL e RILEY (1951) demonstram ser preferível este último solvente.

Porque as gorduras alimentares encerram naturalmente quantidades diminutas de ácidos di, tri e tetrénicos conjugados, cuja presença se torna necessário considerar para efeitos de correcção, o doseamento dos ácidos gordos essenciais envolve, em síntese, a medida da absorção ultravioleta a 233, 268 e 315 mμ duma amostra de gordura antes e depois do tratamento isomerizante. O acréscimo registado na absorção nestes comprimentos de onda traduz, respectivamente, as quantidades de ácidos linoleico, linolénico e araquidónico.

1 — Valores-padrão dos Ácidos Gordos Essenciais

São estes valores-padrão (« standardized data ») os coeficientes de extinção específica após isomerização alcalina dos ácidos linoleico, linolénico e araquidónico puros, determinados nos comprimentos de onda característicos. A fixação dos valores rigorosos destes coeficientes tem constituido matéria delicada, em face das dificuldades que rodeiam o isolamento daqueles ácidos poliénicos no estado de pureza total. Em 1951, a Comissão de Espectroscopia da « American Oil Chemists'Society » fez a revisão do problema e preconizou, após investigações laboratoriais, o uso dos números seguintes:

QUADRO IV

Ácido poliénico isomerizado	Coeficiente de extinção específica — comprimento de onda (em mμ)		
	233	268	315
Linoleico	92,1		
Linolénico	61,6	50,5	
Araquidónico	56,7	53,0	21,3

São estes os valores-padrão adoptados no presente trabalho.

2 — Constituintes Conjugados

A) — *Curvas de absorção*

As determinações da absorção devida aos constituintes conjugados realizaram-se após dissolução duma amostra de gordura (200 mg.) em ciclohexana purificada por adsorção numa coluna de sílica-gel. Utilizando um espectrógrafo Zeiss munido de cubetas logarítmicas de SCHEIBE e de sector duplo de GUDE, obtiveram-se os elementos que permitiram estabelecer as curvas de absorção. Em abcissas registaram-se os comprimentos de onda e em ordenadas os coeficientes de extinção específica, dados por:

$$k = \frac{1}{c\,l} \log \frac{I_o}{I}$$

em que

c: concentração da solução absorvente, em g./l.
l: espessura da camada absorvente, em cm.
$\frac{Io}{I}$: densidade óptica fornecida pelo espectrógrafo

Deste modo se traçaram as curvas 1-A, 2-A, 3-A, 4-A, 5-A, 6-A, 7-A e 8-A adiante inseridas.

B) — *Correcção das leituras*

Para deduzir das curvas atrás referidas os coeficientes de extinção específica correspondentes aos constituintes conjugados di, tri e tetrénicos, representados, respectivamente, por k_2, k_3 e k_4, há que introduzir correcções nas leituras feitas sobre as curvas de absorção a 233, 268 e 315 mμ. Com efeito, quando são diminutas as quantidades de ácidos poliénicos, a acção absorvente de substâncias estranhas torna imprescindíveis tais rectificações, pois aquela interferência pode causar erros tão grandes que os resultados ficam destituídos de significado.

Para o coeficiente de extinção específica da mistura devido aos ácidos gordos conjugados diénicos, a correcção a introduzir é suficientemente pequena para que, no caso presente, se possa fazer:

$$k_2 = k_{233}$$

em que k_{233} é o coeficiente observado a 233 mμ.

No caso do coeficiente de extinção específica correspondente aos ácidos gordos conjugados triénicos, o valor corrigido da influência da « background absorption » é dado por:

$$k_3 = 2{,}8 \left(k_{268} - \frac{1}{2} (k_{262} + k_{274}) \right)$$

em que k_{268}, k_{262} e k_{274} são os coeficientes observados para a amostra e a constante 2,8 é deduzida de medidas espectrofotométricas realizadas em soluções de ácido β-eleosteárico puro.

Para o coeficiente de extinção específica da amostra devido aos ácidos conjugados tetrénicos a correcção é fornecida pela expressão análoga:

$$k_4 = 2{,}5 \left(k_{315} - \frac{1}{2} (k_{308} + k_{322}) \right)$$

em que k_{315}, k_{308} e k_{322} são os coeficientes observados na amostra e a constante 2,5 é deduzida da curva de absorção do isómero conjugado puro do ácido araquidónico, dissolvido em álcool.

3 — Constituintes não Conjugados

A) — *Curvas de absorção*

Dissolvida a amostra isomerizada em álcool química e òpticamente puro, o espectógrafo permitiu estabelecer a curva dos coeficientes de extinção específica em função dos comprimentos de onda, tal como se indicou para os constituintes conjugados. Assim se traçaram as curvas 1-B, 2-B, 3-B, 4-B, 5-B, 6-B, 7-B e 8-B, que adiante se inserem.

B) — *Correcção das leituras*

Para deduzir dos gráficos acima indicados os coeficientes de extinção específica da mistura devidos aos isómeros conjugados dos ácidos linoleico, linolénico e araquidónico, há que introduzir, nas leituras feitas nos comprimentos de onda característicos, correcções motivadas não só pela absorção de substâncias estranhas mas também pela absorção provocada pelos constituintes conjugados originalmente existentes, que o tratamento alcalino não afectou.

O coeficiente de extinção específica da amostra a 233 mμ, corrigido da influência dos componentes conjugados diénicos originalmente existentes, é, como se compreende:

$$k'_2 = k'_{233} - k_{233}$$

em que k'_{233} e k_{233} são, respectivamente, os valores lidos sobre as curvas, a 233 mμ, depois e antes da isomerização.

O coeficiente k'_2 corresponde, em última análise, ao ácido linoleico que o tratamento alcalino converteu no isómero conjugado.

O coeficiente de extinção da amostra a 268 mμ corrige-se da influência de substâncias estranhas pela expressão:

$$k'_3 = 4,03 \left(k'_{268} - \frac{1}{2} \left(k'_{262} + k'_{274} \right) \right)$$

na qual k'_{268}, k'_{262} e k'_{274} são os coeficientes directamente deduzidos da curva de absorção e a constante 4,03 se obtem a partir

das medições espectrofotométricas realizadas numa solução, em álcool etílico, do isómero conjugado do ácido linolénico puro.

A correcção devida aos componentes conjugados triénicos inicialmente existentes na amostra e não destruídos pelo alcali isomerizante é dada, lògicamente, por:

$$k''_3 = k'_3 - k_3$$

O coeficiente de extinção específica k''_3 corresponde, pois, ao ácido linolénico que o tratamento alcalino conjugou.

Semelhantemente, o coeficiente de extinção da mistura a 315 mμ, corrigido da interferência das substâncias estranhas, vem:

$$k'_4 = 2{,}06 \left(k'_{315} - \frac{1}{2} \left(k'_{308} + k'_{322} \right) \right)$$

em k'_{315}, k'_{308} e k'_{322} são os coeficientes observados a 315, 308 e 322 mμ, respectivamente, e a constante 2,06 se deduz de leituras espectrofotométricas referentes a uma solução em álcool etílico do isómero conjugado do ácido araquidónico puro.

A correcção motivada pelos constituintes tetrénicos conjugados originais e não destruídos pelo alcali será, intuitivamente:

$$k''_4 = k'_4 - k_4$$

Assim, k''_4 é o coeficiente de extinção específica correspondente ao ácido araquidónico convertido no isómero conjugado pelo tratamento alcalino.

4) — Cálculo das Percentagens de Ácidos Gordos Essenciais

Determinados, nos comprimentos de onda característicos, os valores correctos dos coeficientes de extinção específica da amostra de gordura devidos aos ácidos linoleico, linolénico e araquidónico presentes e fixados os valores-padrão correspondentes a estes ácidos poliénicos no estado puro, a lei de LAMBERT-BEER permite o cálculo das proporções daqueles ácidos na mistura. Representando por X, Y e Z, respectivamente, as percentagens de ácidos linoleico, linolénico e araquidónico, ter-se-á:

a) — para o comprimento de onda de 233 mμ

$$100\ k'_2 = 92{,}1\ X + 61{,}6\ Y + 57{,}6\ Z$$

ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA DE ÁCIDOS GORDOS ESSENCIAIS

Material: Manteiga

Data: 27/ Fever. / 1952

Amostra Nº 6

Por: P. Santos

A — Constituintes conjugados

Peso da amostra: 200 mg.

Curva 6-A

Solvente: ciclohexana

λ	233	262	268	274	308	315	322
K	1,12	0,09	0,09	0,09	—	—	—

Coeficientes corrigidos:

$K_2 = K_{233} =$ 1,12

$K_3 = 2{,}8\,[K_{268} - \frac{1}{2}(K_{262} + K_{274})] =$ 2,8 (0,00) = 0

$K_4 = 2{,}5\,[K_{315} - \frac{1}{2}(K_{308} + K_{322})] =$ —

B — Constituintes não-conjugados

Peso da amostra: 100 mg

Curva 6-B

Isomerização: 25 min. em OHK-glicol etilénico, a 180°C

Solvente: etanol

λ	233	262	268	274	308	315	322
K'	4,60	0,86	1,15	0,80	0,40	0,62	0,56

Coeficientes corrigidos:

$K'_2 = K'_{233} - K_{233} =$ 4,60 − 1,12 = 3,48

$K'_3 = 4{,}03\,[K'_{268} - \frac{1}{2}(K'_{262} + K'_{274})] =$ 4,03 (0,32) = 1,29

$K''_3 = K'_3 - K_3 =$ 1,29 − 0 = 1,29

$K'_4 = 2{,}06\,[K'_{315} - \frac{1}{2}(K'_{308} + K'_{322})] =$ 2,06 (0,14) = 0,288

$K''_4 = K'_4 - K_4 =$ 0,288

C — Percentagem de ácidos gordos essenciais

1 — Ácido linoleico

$X = 1{,}086\,K'_2 - 1{,}324\,K''_3 + 0{,}40\,K''_4 =$ 1,086 (3,48) − 1,324 (1,29) + 0,40 (0,288) = 2,19

2 — Ácido linolénico

$Y = 1{,}980\,K''_3 - 4{,}92\,K''_4 =$ 1,980 (1,29) − 4,92 (0,288) = 1,14

3 — Ácido araquidónico

$Z = 4{,}69\,K''_4 =$ 4,69 (0,288) = 1,35

b) — para o comprimento de onda de 268 mμ

$$100\ k''_3 = 50{,}5\ Y + 53{,}0\ Z$$

c) — para o comprimento de onda de 315 mμ

$$100\ k''_4 = 21{,}3\ Z$$

Daqui resultam as expressões que fornecem as percentagens daqueles ácidos na amostra:

$$X = 1{,}086\ k'_2 - 1{,}324\ k''_3 + 0{,}400\ k''_4$$

$$Y = 1{,}980\ k''_3 - 4{,}920\ k''_4$$

$$Z = 4{,}690\ k''_4$$

Tendo em vista a clareza, comodidade e rapidez dos cálculos a efectuar, delineou-se para o efeito o modelo de impressos que se reproduz.

RESULTADOS — SUA DISCUSSÃO

O método espectrofotométrico, aplicado ao material considerado, conduziu aos resultados que se resumem no Quadro V.

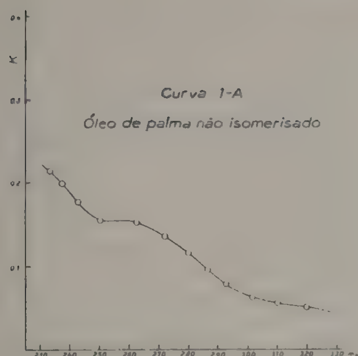
QUADRO V

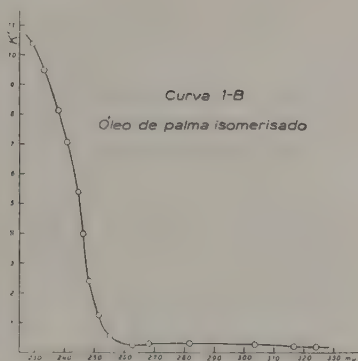
Percentagem de ácidos gordos essenciais em gorduras alimentares

Amostra n.º	Gordura	Ácido linoleico %	Ácido linolénico %	Ácido araquidónico %
1	Óleo de palma . . .	9,96	0,19	—
2	Óleo de amendoim . .	20,18	0,19	—
3	Óleo de gergelim . .	39,03	0,28	—
4	Óleo de coco. . . .	1,81	—	—
5	Azeite	7,66	0,36	—
6	Manteiga	2,19	1,14	1,35
7	Banha de porco . . .	7,93	0,39	0,58
8	Margarina	3,36	0,15	—

Do estudo crítico deste conjunto de resultados infere-se que, para o óleo de palma, os valores encontrados concordam com os obtidos nesta gordura por HILDITH, MEARA e ROELS (1947) pelo método de cristalização a baixa temperatura. Estes autores dosearam em tal gordura 9,5 % de ácido linoleico e 0,4 % de ácido

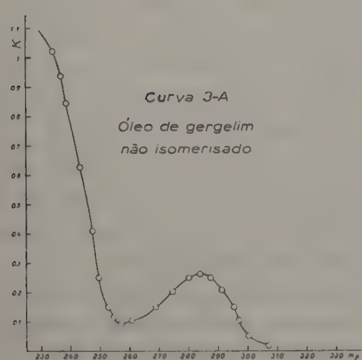
CURVAS DE ABSORÇÃO

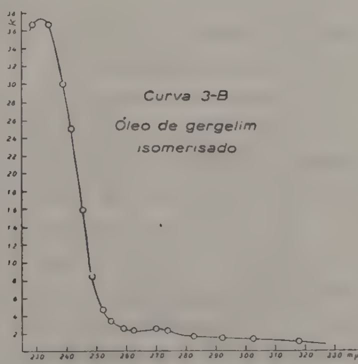




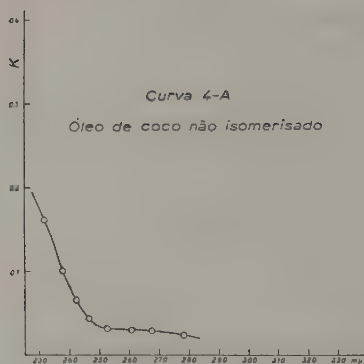


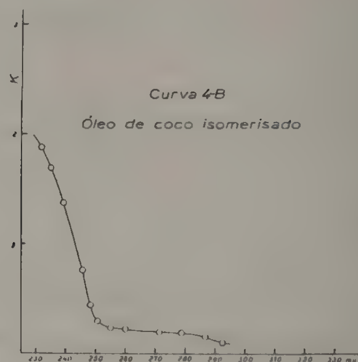


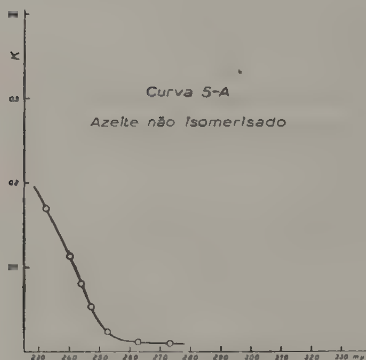


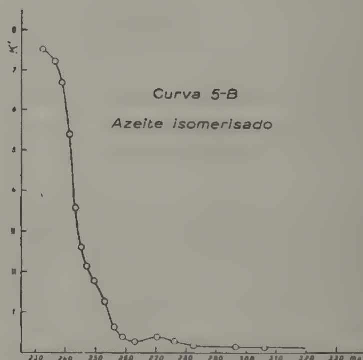


Curvas de Absorção

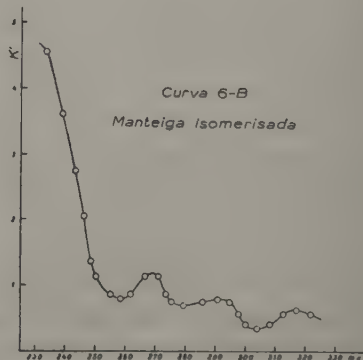




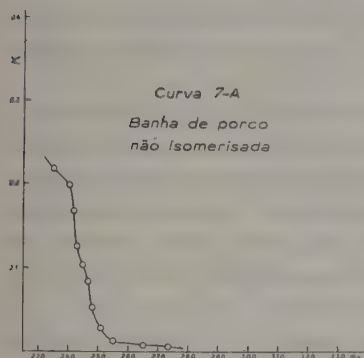


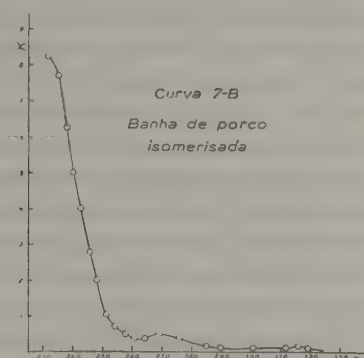


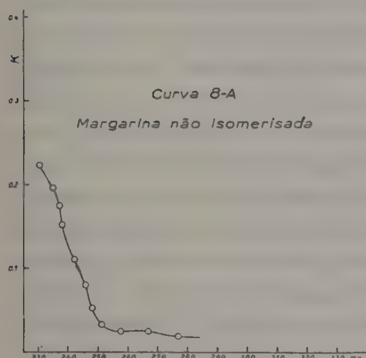


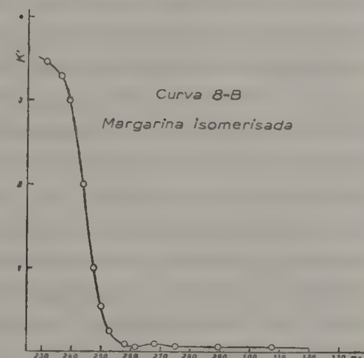


CURVAS DE ABSORÇÃO









linolénico, referindo-se em tal trabalho, pela primeira vez, a presença de 9, 12, 15-octadecatrienóico em óleo de palma. A análise espectrográfica que executámos denuncia, também, ácido linolénico, num teor de 0,19 %.

No óleo de amendoim, os valores determinados não discordam das quantidades correntemente referidas para esta gordura. Quanto à presença do ácido linolénico, estendem-se ao óleo de amendoim as considerações feitas a seguir para o caso do azeite.

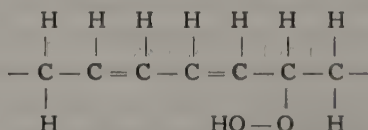
No óleo de gergelim, os teores encontrados por via espectrográfica ajustam-se perfeitamente aos que a bibliografia da especialidade normalmente cita.

No óleo de coco não são de surpreender nem o baixo teor em ácido linoleico nem a ausência de ácido linolénico, pois, além

de se tratar duma gordura tìpicamente saturada, acresce o facto de se haver considerado uma amostra de óleo refinado. O ácido linoleico no óleo de coco não excede 2,6 %, segundo DEUEL (1948, pág. 766); o valor referido para a amostra analisada é, pois, inteiramente aceitável.

No azeite, sabe-se que o teor em ácido linoleico oscila entre limites consideràvelmente largos. Em azeites italianos, BAILEY (1948) refere percentagens desde 3,9 a 15. Se uma amostra nacional, proveniente da casta «Redondil», doseou 6,04 %, noutra, da casta «Verdeal», encontraram-se 10,73 %, segundo VIDAL (1950). No azeite considerado no presente trabalho, a análise espectrofotométrica denunciou um valor intermédio: 7,66 %.

A par deste ácido diénico, os elementos colhidos na análise espectral permitem supor a presença de ácido linolénico num teor de 0,36 %. Porém, os ensaios de natureza química não autorizam estabelecer a existência de tal ácido nesta gordura; falha, por exemplo, o ensaio dos hexabrometos na pesquisa do ácido em questão. Perante esta anomalia, indagam HILDITCH e SHRIVASTAVA (1947) se é ou não lícito identificar com o ácido linolénico a conjugação triénica observada em gorduras do tipo do azeite após o tratamento isomerizante. A absorção verificada nesta zona do espectro poderá atribuir-se ao desenvolvimento de conjugação triénica a partir da isomerização de linoleatos oxidados e não porque na amostra exista, na realidade, ácido linolénico. Corroborando esta interpretação, sabe-se que os produtos de oxidação dos ácidos poliénicos originam, quando submetidos a tratamento isomerizante em meio alcalino, uma insaturação de grau superior à do ácido inicial. O fenómeno explica-se admitindo que as elevadas temperaturas exigidas pela isomerização determinam uma desidratação das estruturas oxidadas, com o consequente aparecimento de novas ligações etilénicas. Com efeito, se na estrutura



típica dum produto de oxidação do ácido linoleico, ocorrer um fenómeno desidratante, é possível a formação dum sistema conjugado triénico.

Anàlogamente, também os produtos de oxidação do ácido

linolénico podem, após o tratamento isomerizante, desenvolver absorção na zona de conjugação tetrénica.

Se bem que no método espectrofotométrico utilizado neste trabalho possam surgir, após a isomerização alcalina, estruturas conjugadas absorventes derivadas de produtos de oxidação dos ácidos poliénicos, com repercussão nos resultados analíticos, deve acentuar-se serem, em regra, insignificantes os erros assim introduzidos. O tratamento isomerizante realizou-se ao abrigo do contacto com o ar, no seio de azoto, justamente para obviar, tanto quanto possível, a oxidação dos ácidos gordos. Num estudo deste pormenor do método espectrofotométrico, BRICE e SWAIN (1949, pág. 277) opinam: «Fortunately, the amount of triene conjugation realized for even relatively large amounts of oxidized linoleic acid on alkali isomerization is low and contributes only small errors to the amounts of spectrophotometrically determined linolenic acid».

Estes mesmos autores encontram, numa amostra de azeite, após análise espectrográfica, 9, 10 % de ácido linoleico e 0,60 % de um ácido que calculam como linolénico.

No óleo de semente de algodão também os ensaios clássicos não evidenciam a presença de ácidos triénicos, se bem que a técnica de análise espectrográfica revele ácidos com 3 duplas ligações, num teor entre 0,2 e 0,7 %. Os compostos causadores da absorção observada podem ser ácidos triénicos, embora seja mais verosímil tratar-se de produtos de oxidação do ácido linoleico, segundo BAILEY (1948, pág. 375).

A presença de ácido linolénico no azeite, tal como nos óleos de semente de algodão, de semente de tabaco, de amendoim e gorduras análogas, terá, pois, de ser admitida sob reserva.

Em nenhuma das gorduras vegetais que considerámos, a análise revelou a existência de absorção devida à conjugação tetrénica. Concorda esta circunstância com a provada ausência de ácido araquidónico nos lípidos de origem vegetal.

Por meio da técnica espectrofotométrica aplicada à análise de manteiga, SHAFFER e HOLM (1950) indicam 2,62 % de ácido linoleico e 1,02 % de ácido linolénico. O estudo analítico que empreendemos conduziu a resultados inteiramente de harmonia com estes últimos: 2,19 % e 1,14 %, respectivamente.

Em 1934, BOSWORTH e SISSON identificaram nesta mesma gordura o ácido araquidónico. Da apreciação dos copiosos trabalhos analíticos sobre gorduras levados a cabo por HILDITCH e colaboradores

conclui-se haver na manteiga quantidades variáveis, embora reduzidas, de ácidos altamente insaturados, do tipo 5, 8, 11, 14-eicosatetrenóico. Nas análises de tais autores, estes ácidos poliénicos das séries C_{20} e C_{22} («arachidonic type») figuram em percentagens desde 0,3 a 1,7, consoante a natureza da alimentação fornecida aos animais, estação do ano, etc.

VIDAL e NETTO (1951), num estudo sobre 222 amostras de manteiga colhidas em 74 fábricas de lacticínios do continente, Açores e Madeira, verificaram que 145, isto é, 65,3 % do total denunciam, através do ensaio dos polibrometos, a presença de ácidos insaturados com mais de 2 duplas ligações livres. Em 16 amostras o ensaio é registado como fortemente positivo.

Nos resultados que colhemos, encontra-se um teor de 1,35 % de ácido araquidónico na manteiga, valor elevado mas que reputamos aceitável; com efeito, a curva de absorção após o tratamento isomerizante a que se submeteu a amosta (curva 6-B) acusa acentuada inflexão na zona típica da estrutura tetrénica conjugada (315 $m\mu$).

Na banha, os resultados analíticos obtidos enquadram-se nos limites de variação normalmente apontados para esta gordura. Após análise de 33 amostras colhidas em 26 fábricas do Canadá, LIPS e GRANT (1947) referem os limites seguintes:

ácido linoleico — 4,6 a 11,3 %
ácido linolénico — 0,3 a 1,5 %
ácido araquidónico — 0,2 a 1,7 %.

Em 1948, BEADLE e colaboradores indicam o seguinte doseamento espectrofotométrico de uma amostra de banha:

ácido linoleico — 11,90 %
ácido linolénico — 0,94 %
ácido araquidónico — 0,50 %.

Em 1952, BRICE e colaboradores, mediante técnica espectrográfica idêntica à adoptada no trabalho presente, encontram numa amostra de banha os 3 ácidos essenciais nas percentagens seguintes:

ácido linoleico — 10,20 %
ácido linolénico — 0,68 %
ácido araquidónico — 0,30 %.

Cotejando os valores por nós encontrados para esta gordura com os referidos por vários autores, deduz-se ser a amostra estudada um pouco mais rica em ácido araquidónico, embora com um teor consideràvelmente baixo em ácidos linoleico e linolénico. Tal como para a manteiga, a curva de absorção da banha após tratamento isomerizante (curva 7-B) evidencia, a 315 mμ, a presença de estruturas tetrénicas conjugadas. Na verdade, já em 1945 BEADLE e colaboradores haviam demonstrado ser esta gordura caracterizada pela presença do ácido araquidónico e proposto, mesmo, que a fácil revelação deste ácido pela técnica espectrográfica fosse adoptada como ensaio qualitativo para a pesquisa da banha em misturas gordas (margarina, «shortenings»).

Quanto à margarina, os valores calculados são aceitáveis, porquanto se trata de uma mistura artificial em que predominam os lípidos saturados. As curvas de absorção correspondentes (8-A e 8-B) não permitem supor a existência de ácidos de insaturação superior à do linolénico e este, mesmo, em escassa percentagem. Em trabalho que teve por objectivo a determinação dos ácidos gordos essenciais por via biológica, DEUEL e colaboradores (1951) encontram em todas as amostras de margarina utilizadas um teor em ácido linoleico superior ao determinado nas amostras de manteiga, facto com que concordam os valores por nós doseados, para este ácido, nas duas gorduras.

O conjunto dos resultados obtidos na análise espectrofotométrica dos ácidos gordos indispensáveis em gorduras alimentares permite estabelecer um cômputo aproximado das doses destes factores vitamínicos ao dispor da população metropolitana. No domínio da dietética, em qualquer balanço que abranja um número avultado de indivíduos, é inviável por motivos evidentes estabelecer cálculos com pretensões de exactidão. Não foge à regra o caso presente. Trata-se de mera estimativa baseada nos resultados analíticos alcançados e nos elementos estatísticos referentes ao consumo de gorduras no nosso país.

Das oito substâncias gordas consideradas, não é utilizado o óleo de palma no consumo alimentar da metrópole.

O óleo de coco só muito escassamente figura na dieta da população metropolitana. Segundo nota cedida pela Comissão Reguladora do Comércio de Oleaginosas e Óleos Vegetais, as quantidades desta gordura refinada consumidas em fins alimentares (excluindo o fabrico de margarinas) traduzem-se por uma

média anual de 43,5 toneladas, a que corresponde — considerando os 7.185.143 indivíduos recenseados em 1940 — a diminuta capitação de 6,05 g. por ano, valor suficientemente pequeno para poder deixar de ser tomado em linha de conta nos cálculos subsequentes.

Para as demais gorduras, o Instituto Nacional de Estatística, na balança alimentar de 1948-49 relativa ao continente português, indica as seguintes capitações diárias:

Azeite	20,6 g.
Óleo de amendoim.	4,8 g.
Manteiga	1,2 g.
Margarina	0,3 g.
Banha e toucinho	9,8 g.

Deixam estes números inferir ser pobre em gorduras o regime alimentar da generalidade dos portugueses; aquelas estão longe de alcançar o padrão médio diário — 80 gramas — indicado para as condições ecológicas do nosso país. Verifica-se no consumo metropolitano o predomínio das gorduras vegetais (69,5 % do total) e, dentre estas, o do azeite (56,1 % do total). O fenómeno é, aliás, típico de todos os países de influência mediterrânica.

As percentagens de ácidos gordos essenciais reveladas pela análise espectrofotométrica nas amostras-tipo das gorduras com que trabalhámos (Quadro V) permitem, em face das capitações calculadas pelo Instituto Nacional de Estatística, avaliar as quantidades daqueles ácidos postas diàriamente à disposição de cada indivíduo.

Cabe referir que, para o óleo de amendoim, se determina legalmente a adição de 5 % de óleo de gergelim, pelo que os 4,8 g. indicados por aquele organismo se desdobram, na verdade, em 4,56 g. do primeiro e 0,24 g. do segundo.

O Quadro VI sumaria o cálculo da capitação diária de ácidos gordos indispensáveis.

Determina-se, assim, uma dose média diária «per capita» de 3614,2 mg. de ácidos gordos essenciais.

Refere-se este valor às gorduras antes de submetidas às operações comuns em culinária. Muito recentemente, porém, demonstrou-se (CHANG & WATTS, 1952) que aquelas manipulações quase não afectam o teor dos alimentos em ácidos gordos poliénicos.

O total encontrado pressupõe, ainda, a presença de ácido linolénico no azeite e no óleo de amendoim, existência discutível e que, como anteriormente se referiu, se admite sob reserva.

Dos números obtidos, deduz-se preponderar o ácido linoleico, com 94,21 % do total e figurar o ácido araquidónico sòmente com 2,02 % daquele. Verifica-se, no conjunto, ser mais avultada a contribuição das gorduras vegetais (74,03 % do total). Pode, ainda,

QUADRO VI

Capitação diária de ácidos gordos essenciais

Gordura	Dose diária (g.)	Ácidos gordos essenciais			
		Linoleico (mg.)	Linolénico (mg.)	Araquidónico (mg.)	TOTAL (mg.)
Azeite	20,6	1578	74	—	1652
Óleo de amendoim . .	4,56	920	9	—	929
Óleo de gergelim . .	0,24	94	0,7	—	94,7
Manteiga	1,2	26	14	16	56
Margarina	0,3	10	0,5	—	10,5
Banha e toucinho . .	9,8	777	38	57	872
TOTAL . .	36,7	3405	136,2	73	3614,2

concluir-se caber às gorduras de mais baixo custo a mais volumosa comparticipação no quantitativo diário de ácidos indispensáveis.

Se os estudos em curso sobre estes factores vitamínicos vierem a confirmar diferenças no seu comportamento individual, se a acção fisiológica do ácido araquidónico, típico das gorduras animais, não puder identificar-se com a dos ácidos linoleico e linolénico, presentes nos lípidos vegetais, é presumível que venham a colher-se indicações de interesse na orientação da produção de gorduras duma e doutra origem. E é verosímil, mesmo, que o aprofundamento dos conhecimentos acerca deste aspecto particular da fisiologia dos lípidos possa, mais remotamente, fornecer sugestões para a determinação do conveniente equilíbrio entre as áreas de olival e de montado no nosso país, dado serem as gorduras alimentares mais representativas no consumo metropolitano, respectivamente, o azeite e a banha e toucinho, encontrando-se a produção das duas últimas na dependência da criação porcina.

Se se tiver presente que, segundo os números encontrados pelo Instituto Nacional de Estatística para o ano de 1948-49, somam 2217 calorias as disponibilidades energéticas médias diárias por indivíduo e que a uma dose de 3614,2 mg. de ácidos gordos indispensáveis por dia correspondem 32,5 calorias, conclui-se que o quantitativo diário daqueles ácidos, expresso por 1,47 % do total energético, bastante se aproxima do mínimo referido pelo «National Research Council» (1 % do total de calorias).

É indubitàvelmente exíguo o número encontrado para a capitação nacional de calorias. Para as condições mesológicas do continente português, MAIA DE LOUREIRO, ROCHA FARIA e outros nutricionistas calculam serem necessárias 3000 calorias diárias, considerado um homem adulto medianamente activo. Em relação a este número-índice, existe assim um déficit calórico de 26 % na dieta média nacional. Elevando-se, como a todo o transe é de desejar, o conteúdo energético desta, mais se aproximam do limite mínimo (1 %) as disponibilidades em ácidos gordos essenciais, a menos que no regime alimentar se incorporem gorduras. Se a comparticipação dos lípidos na dieta se incrementar, o nível energético experimentará melhoria sensível, aproximando-se dos padrões convenientes, e as disponibilidades em ácidos indispensáveis serão acrescidas, afastando-se do limite crítico referido.

É certo que no cômputo por nós elaborado não se entrou em consideração com os ácidos gordos essenciais veiculados pelos lípidos das carnes, dos ovos, do peixe, dos lacticínios, etc., mas a contribuição destes alimentos não deve modificar notòriamente o quadro descrito, já pela escassez do seu consumo, já pelo reduzido teor em ácidos gordos indispensáveis.

CONCLUSÕES

1 — A população metropolitana tem ao seu dispor, por dia, uma dose média individual de 3614,2 mg. de ácidos gordos essenciais.

2 — O quantitativo indicado corresponde a 1,47 % das disponibilidades energéticas diárias, calculadas pelo Instituto Nacional de Estatística para a média dos portugueses do continente, pelo que se encontra ligeiramente acima da dose mínima que o «National Research Council» dos E. U. preconiza, por dia, para tais factores vitamínicos (1 % do total calórico).

No cálculo da dose média diária de ácidos gordos essenciais

abstraiu-se dos lípidos contidos em alguns alimentos (ovos, peixe, lacticínios, etc.) mas considera-se a respectiva contribuição incapaz de modificar de modo notório a situação referida.

3 — As gorduras com maior representação no regime alimentar português são consideràvelmente ricas em ácidos gordos essenciais, o que explica o facto de se alcançar o consumo mínimo preconizado para estes factores vitamínicos apesar de ser baixa a capitação nacional de lípidos.

4 — Deverá considerar-se o equilíbrio da relação ácidos gordos essenciais/calorias em todas as tentativas para elevar o padrão energético da dieta média nacional, a fim de evitar que o teor daqueles venha a situar-se em nível inferior ao das exigências do metabolismo normal.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. A. SOUSA DA CÂMARA, ilustre Director da Estação Agronómica Nacional, o autor exprime o seu sincero e profundo agradecimento pelas inestimáveis facilidades que quis propiciar-lhe para a realização deste ensaio.

Ao Chefe do Departamento de Química Tecnológica da Estação Agronómica Nacional, Engenheiro Agrónomo V. A. CANHOTO VIDAL, penhoradamente agradece o autor os valiosos ensinamentos prodigalizados, a benévola e criteriosa orientação e, ainda, as múltiplas e inequívocas provas de honrosa estima.

SUMMARY

The problem of the essentiality of unsaturated fatty acids (linoleic, linolenic and arachidonic acids) in animal nutrition and more specifically in human diet is revised.

By means of spectrophotometric procedure the author was able to determine the content in essential fatty acids of the most common Portuguese dietary fats, namely olive, peanut, sesame, coconut and palm oils, butter, margarine and lard. The data obained are listed in Table V. By referring these data to the figures supplied by the National Statistic Bureau (Instituto Nacional de Estatística) dealing with average consumption of fats in Portugal, it was found that only 3,614.2 mg. of essential fatty acids are available per person. This amount equals 1.47 % of the

daily caloric total, thereby exceeding but slightly the minimum adequate intake set up by the National Research Council (1 % of the dailv caloric total).

The author finally points out to the fact that in any attempt to raise the energetic level of the Portuguese diet, attention should be paid to the relation essential fatty acids/caloric intake, in order to avoid that the percentage of these unsaturated fatty acids will drop well below the minimum established by the nutrition authorities.

BIBLIOGRAFIA

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY

1949 Report of the Spectroscopy Committee. *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **26**: 399-404.

1951 Report of the Spectroscopy Committee. *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **28**: 331-335.

AZERAD, E. et GRUPPER, A.

1948 A propos de la note de M. JACQUES CHARPY sur la thèrapeutique de fond de l'eczéma par l'association acides gras non saturés-vitamine B_6. *Bull. mém. soc. méd. hôp. Paris* **64**: 456-458.

BAILEY, A. E.

1948 *Cottonseed and Cottonseed Products.* Interscience Publishers, Inc., New York.

BARKI, V. A., COLLINS, R. A., HART, E. B. and ELVEHJEM, C. A.

1949 Relation of fat-deficiency symptoms to the polyunsaturated fat acid content of the tissues of the mature rat. *Proc. Soc. exp. Biol.* **71**: 694-696 (ref. *Chem. Abstr.* **44**: 714).

BEADLE, B. W. and KRAYBILL, H. R.

1944 The spectrophotometric analysis of fats. *J. Am. chem. Soc.* **66**: 1232.

BEADLE, B. W., KRAYBILL, H. R. and STRICKER, L. A.

1945 A spectrophotometric method for differentiating between lard and hydrogenated vegetable oils. *Oil & Soap* **22**: 50-51.

BEADLE, B. W., WILDER, O. M. and KRAYBILL, H. R.

1948 The deposition of trienoic fatty acids in the fats of the pig and the rat. *J. biol. Chem.* **175**: 221-229.

BECKER, J.

1933 Role of unsaturated acids (linoleic acid) in the nutrition of rats. *Mezögazdas. kutatás.* **6**: 363-371 (ref. *Chem. Abstr.* **28**: 2394).

BERNHARD, K.

1948 Les acides gras essentiels. *Arch. sci. physiol.* **2**: 257-265.

BRICE, B. A. and SWAIN, M. L.

1945 Ultraviolet absorption method for the determination of polyunsaturated constituents in fatty materials. *J. opt. Soc. Amer.* **35**: 532-544.

BRICE, B. A. and SWAIN, M. L.
1949 Formation of traces of conjugated tetraenoic and trienoic constituents in autoxidized linolenic and linoleic acids and vegetable oils during alkali--isomerization. *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **26**: 272-277.

BRICE, B. A., SWAIN, M. L., HERB, S. F., NICHOLS Jr., P. L. and RIEMENSCHNEIDER, R.
1952 Standardization of spectrophotometric methods for determination of polyunsaturated fatty acids using pure natural acids. *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **29**: 279-287.

BRODE, W. R.
1946 *Advances in Enzymology*. Interscience Publishers, Inc., New York, vol. IV.

BROWN, J. B. and ORIANS, B. M.
1946 The fat acids of human milk. *Arch. Biochem.* **9**: 201-219 (ref. *Chem. Abstr.* **40**: 6600).

BURR, G. O.
1945 *Dietotherapy*. edit. M. G. WOHL, Philadelphia.

BURR, G. O. and BARNES, R. H.
1943 Non-caloric functions of dietary fats. *Physiol. Rev.* **23**: 256-278.

BURR, G. O., BROWN, W, R., HANSEN, A. E. and McQUARRIE, I.
1938 Effects of prolongated use of extremely low-fat diet on an adult human subject. *J. Nutrit.* **16**: 511-523.

BURR, G. O. and BURR, M. M.
1929 A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *J. biol. Chem.* **82**: 345-367.
1930 On the nature and rôle of the fatty acids essential in nutrition *J. biol. Chem.* **86**: 587-621.

BURR, G. O., BURR, M. M. and MILLER, E. S.
1932 On the fatty acids essential in nutrition. *J, biol. Chem.* **97**: 1-9.

BURR, G. O. and HANSEN, A. E.
1946 Essential fatty acids and human nutrition. *J. Amer. med. Assoc.* **132**: 855-859.

CHANG, I. C. L. and WATTS, B. M.
1952 The fatty acid content of meat and poultry before and after cooking. *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **29**: 334-338.

CHARPY, M. J.
1948 La thèrapeutique de fond dc l'eczéma par l'association acides gras non saturés-vitamine B_6. *Bull. mém. soc. méd. hôp. Paris* **64**: 410-411.

DEUEL Jr., H. J.
1948 *Cottonseed and Cottonseed Products*. edit. A. E. BAILEY, Interscience Publishers, Inc., New York.

DEUEL Jr., H. J., ANISFELD, L. and GREENBERG, S. M.
1951 The lack of correlation between the growth response of the fat-depleted rat to essential fatty acids and the tocopherol content of the diet. *J. Nutrit.* **45**: 599-607.

DEUEL Jr., H. J., GREENBERG, S. M., ANISFELD, L. and MELNICK, D.
1951 The effect of fat level of the diet on general nutrition. VIII. *J. Nutrit.* **45**: 535-549.

DEUEL Jr., H. J., GREENBERG, S. M., CALBERT, C. E. and SAVAGE, E. E.

1950 The effect of fat level of the diet on general nutrition. VI. *J. Nutrit.* **41**: 473-486.

EVANS, H. M. and LEPKOVSKY, S.

1932 Vital need of the body for certain unsaturated fatty acids. *J. biol. Chem.* **96**: 143-155.

FERREIRA, F. A. GONÇALVES

1949 *Vitaminas, Ácidos aminados essenciais e Minerais em Nutrição.* Tip. Lousanense, Lousã.

FRAENKEL, G. and BLEWETT, M.

1945 Linoleic acid, α-tocopherol and other fat-soluble substances as nutritional factors for insects. *Nature* **155**: 392-393.

1946 The role of linoleic acid, α-tocopherol and other fat-soluble substances in the nutrition of an insect (*Ephestia kuehniella* Lep.). *Biochem. J.* **40**: XXII.

1947 Linoleic acid and arachidonic acid in the metabolism of two insects, *Ephestia kuehniella* Lep. and *Tenebrio molitor* Col. *Biochem. J.* **41**: 475-478.

GRULEE, C. G. and SANFORD, H. N.

1936 The influence of breast and artificial feeding on infantile eczama. *J. Pediat.* **9**: 223.

HANSEN, A. E. and WIESE, H. F.

1943 Studies with dogs maintained on diets low in fat. *Proc. Soc. exp. Biol.* **52**: 205-208 (ref. *Biol. Abstr.* **17**: 1848).

1951 Fat in the diet in relation to nutrition of the dog. *Texas Repts. Biol. and Med.* **9**: 491-515.

HANSEN, A. E., WIESE, H. F., KNOTT, E. M., SHAPERMAN, E. S. and McQUARRIE, I.

1947 Eczema and essential fatty acids. *Amer. J. Dis. Child.* **73**: 1-18 (ref. *Biol. Abstr.* **21**: 2152).

HILDITCH, T. P., MEARA, M. L. and ROELS, O. A.

1947 The composition of commercial palm oils. Part VI. *J. Soc. chem. Ind.* **66**: 284-288

HILDITCH, T. P., PATEL, C. B. and RILEY, J. P.

1951 The spectrographic determination of linoleic and linolenic acids. *Analyst* **76**: 81-87.

HILDITCH, T. P. and SHRIVASTAVA, R. K.

1947 The spectrophotometric determination of small amounts of linolenic acid in fats. *Analyst* **72**: 527-531.

HOLMAN, R. T.

1951 Metabolism of isomers of linoleic and linolenic acids. *Proc. Soc. exp. Biol.* **76**: 100-102 (ref. *Chem. Abstr.* **45**: 4314).

HOVE, E. L. and HARRIS, P. L.

1946 The interrelation of α-tocopherol and essential unsaturated fat acides. *J. Nutrit.* **31**: 699-713.

HUME, E. M., NUNN, L. A., MACLEAN, I. S. and SMITH, H. H.

1938 Studies of the essential unsaturated fatty acids in their relation to the fat-deficiency disease of rats. *Biochem. J.* **32**: 2162-2176.

1940 Fat-deficiency disease of rats. *Biochem. J.* **34**: 879-883.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTATÍSTICA
1951 *Balança Alimentar 1948/49.* Lisboa. Quadro dactil.

KARRER, P. und KOENIG, H.
1943 Beitrag zur Kenntnis der essentiellen ungesättigten Fettsäuren. *Helv. chim. Acta* **26**: 619-626.

LE BRETON, E.
1949 Quelques aspects actuels du problème des acides gras essentiels. *Ann. nutrition et aliment.* **3**: 493-517.

LECOQ, R., CHAUCHARD, P. et MAZOUÉ, H.
1947 L'avitamitose F chez le rat et chez le pigeon. *Bull. Soc. Chim. biol., Paris.* **29**: 724-727.

LIPS, H. J. and GRANT, G. A.
1947 Characteristics of Canadian lard. *Can. J. Research, Sect. F.* **25**: 63-75 (ref. *Biol. Abstr.* **21**: 1900).

LOUREIRO, J. A. MAIA DE
1941 *Como deve ser hoje encarado o conceito de Vitamina.* Edit. Médica. Lisboa.

MENON, P. S., TULPULE, P. G. and PATWARDHAN, V. N.
1950 Phrynoderma: clinical and biochemical investigations. *Indian J. Med. Research* **38**: 173-186 (ref. *Chem. Abstr.* **45**: 7659).

MITCHELL, J. H., KRAYBILL, H. R. and ZSCHEILE, F. P.
1943 Quantitative spectral analysis of fats. *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.* **15**: 1-3.

MOORE, T.
1937 Spectroscopic changes in fatty acids. *Biochem. J.* **31**: 138-154.

MOORE, T. and DANN, W. J.
1933 The absorption spectra of the mixed fatty acids from cod-liver oil. *Biochem. J.* **27**: 1166-1169.

MOWRY, D. T., BRODE, W. R. and BROWN, J. B.
1942 Studies on the chemistry of the fatty acids. X. *J. biol. Chem.* **142**: 678-691.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL
1948 *Recommended Dietary Allowances.* Nat. Res. Counc., Bull. 129 (ref. *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **29**: 334).

NUNN, L. A. and MACLEAN, I. S.
1938 The nature of the fatty acids stored by the liver in the fat-deficiency disease of rats. *Biochem. J.* **32**: 2178-2184.

PACINI, A. J. and PACINI, A. E.
1937 The vitamin F requirements of the dog. *N. Amer. Vet.* **18**: 45-48.

POTTENGER Jr., F. M.
1950 A common form of fat dyscrasia: dry skin. *Southern med. J.* **43**: 165-167 (ref. *Nutr. Abstr. Rev.* **20**: 175).

POTTER, G. C. and KUMMEROW, F. A.
1950 Factors involved in the spectrophotometric analysis of fats. *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **27**: 190-192.

REISER, R.
1950*a* The essential role of fatty acids in rations for growing chicks. *J. Nutrit.* **42**: 319-324.
1950*b* The metabolism of polyunsaturated fatty acids in growing chicks. *J. Nutrit.* **42**: 325-336.

SHAFFER, P. S. and HOLM, G. E.
1950 The determination of linoleic acid in milk fat. *J. Dairy Sci.* **33**: 865-869.

TANGE, U.
1932 A study of the effects of fatty acids on nutrition. *Sci. Papers Inst. Phys. Chem. Research, Tokyo* **20**: 13-28 (ref. *Chem. Abstr.* **27**: 1664).

TURPEINEN, O.
1938 Further studies on the unsaturated fatty acids essential in nutrition. *J. Nutrit.* **15**: 351-365.

VIDAL, V. A. CANHOTO
1950 Investigação da absorção espectrográfica do azeite no ultravioleta. *Bol. J. N. Azeite* **5** (19-20): 83-98.

VIDAL, V. CANHOTO e NETTO, I. COSTA
1951 *As Manteigas Nacionais sob o Aspecto Químico-Analítico.* Imprensa Portuguesa, Porto.

WINTER, I. C.
1942 Fat metabolism after liver injury. *J. biol. Chem.* **142**: 17-24.

SELECÇÃO RACIAL DE *ASPERGILLUS NIGER* PARA PRODUÇÃO DE ÁCIDO CÍTRICO (*)

POR *MANUEL RIBEIRO MARQUES GOMES*
(Estação Agronómica Nacional)

INTRODUÇÃO

COMO se sabe, os *Aspergilli* são dos fungos mais susceptíveis a todo o género de alterações e, quando conservados por longo tempo sobre um substrato nutritivo, que contenha agar, sofrem gradual degenerescência bioquímica muito notável.

Este facto, só por si, põe em evidência não só a importância do conhecimento da vitalidade das culturas, para a produção industrial do ácido cítrico, como ainda o processo de regenerar o potencial citrogéneo máximo da raça, uma vez que desta característica depende o bom êxito económico.

Carecendo para o nosso trabalho de uma ou mais raças de *Aspergillus niger*, fortemente acidogéneas, e não sabendo se as da nossa colecção continuavam a manter as características que lhes eram próprias, procuramos conhecer quais as que apresentavam potencial citrogéneo mais elevado. Para isso, definiram-se primeiramente as características bioquímicas dessas raças, características citrogéneas no nosso caso, e, depois de definidas, com base nestes resultados, procedeu-se à selecção racial que é o objectivo do presente trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo da selecção incidiu em cinquenta e cinco raças de *Aspergillus niger*, que existiam no Laboratório de Microbiologia Industrial, e adoptamos para a regeneração e reconhecimento do máximo potencial citrogéneo a técnica de CHRZASZCZ e ZAKOMORNY

(*) Este trabalho foi subsidiado pela Comissão Reguladora dos Produtos Químicos e Farmacêuticos.

(1937), após a verificação da sua aplicabilidade a todas as raças deste grupo, visto que a técnica foi concebida e aplicada a uma única raça. Para a selecção racial, segundo o potencial acidogéneo, utilizamos a técnica de FOSTER e DAVIS (1949).

No trabalho de regeneração efectuamos nove sucessivas repicagens para o meio nutritivo (malte-peptona) indicado por CHRZASZCZ e ZAKOMORNY, embora estes autores considerassem suficientes sete repicagens.

O reconhecimento do máximo potencial citrogéneo bem poderia efectuar-se após a selecção, limitando-se apenas às raças eleitas, afigurou-se, contudo, preferível realizá-lo numa fase prévia da selecção com o fim de ajuizar das modificações bioquímicas (acidogéneas) ocorrentes no decurso do processo.

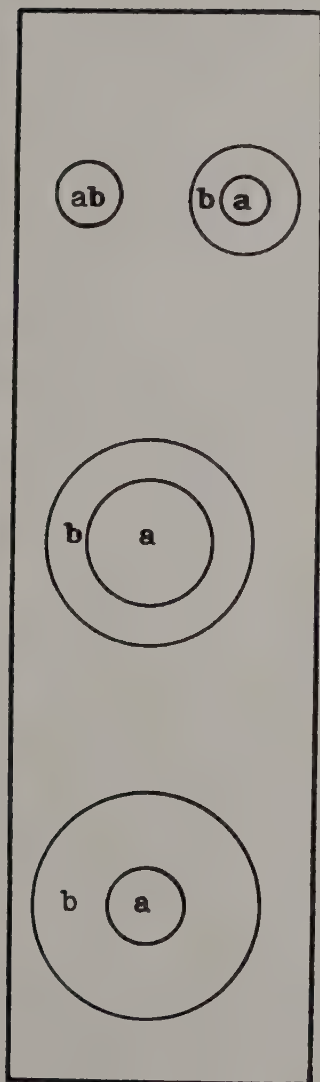
Levou-se a cabo este reconhecimento em vinte e cinco raças tomadas ao acaso por meio de ensaios fermentativos, em soluções de açucar a 20 %, que se efectuaram pela técnica de CHRZASZCZ e ZAKOMORNY antes da regeneração e após as 1.ª, 2.ª, 3.ª, 5.ª, 7.ª e 9.ª repicagens. Deste modo, não só se investigou o progresso citrogéneo das raças em estudo, como também a possível formação de ácido oxálico ou glucónico seguindo a técnica de BERNHAUER (1926).

Concluída a regeneração, procedeu-se à selecção entre todas as cinquenta e cinco raças pela técnica de FOSTER e DAVIS, em que se atende á intensidade da coloração amarela e à área atingida (Fotografias 1 a 3), pelo que foram eleitas as raças que determinaram maior campo amarelo, revelando maior potencial acidogédeo. Como já se tinha prèviamente efectuado o reconhecimento do máximo potencial citrogéneo e, simultâneamente, da ausência de formação de outros ácidos, a acidez representada pelo campo amarelo correspondia, portanto, a citrogeneidade.

A escolha das raças realizada por selecção baseou-se numa prévia eliminação das que apresentaram um deminuto campo amarelo, considerando-se apenas, entre as restantes, aquelas que mostravam grande campo em relação ao desenvolvimento do fungo.

RESULTADOS EXPERIMENTAIS

Os resultados obtidos por ensaios fermentativos para cinco raças mais acidogéneas na 9.ª repicagem apresentam-se no Quadro I, no qual também se registam, para fins de comparação, os valores relativos às mesmas raças antes de iniciada a regeneração. O máximo



Fot. 1 a 3
a) — campo miceliar; b) — halo amarelo

rendimento obtido foi de 54.4 %, em confronto com o mínimo de 14.0 % para a raça n.º 48.

No Quadro II, indicam-se as percentagens de ácido cítrico determinadas nos ensaios fermentativos, antes da regeneração e

QUADRO I

Resultados dos ensaios fermentativos

N.º da raça	Ensaio	Peso do micélio grs.	Acidez Total c. c. OH.Na n/10	Ácido Oxálico	Ácido Cítrico			Ácido Glucónico
					Grs. em 100 c. c. de sol.	Por gr. de micélio seco grs.	% de açúcar	
28	Inicial	1.88	99.9	0	6.23	3.31	31.1	0
	Após 9 rp.	2.54	173.8	0	10.85	4.27	54.2	0
31	Inicial	2.28	90.8	0	5.67	2.49	28.3	0
	Após 9 rp.	2.51	174.0	0	10.87	4.33	54.3	0
34	Inicial	1.89	90.0	++	5.55	2.93	27.7	0
	Após 9 rp.	2.49	174.0	0	10.86	4.35	54.3	0
50	Inicial	2.00	100.4	+	6.20	3.10	31.0	0
	Após 9 rp.	2.47	174.4	0	10.89	4.40	54.4	0
51	Inicial	2.00	87.5	+	5.39	2.69	26.9	0
	Após 9 rp.	2.50	174.0	0	10.86	4.34	54.3	0

após a 1.ª, 2.ª, 3.ª, 5.ª, 7.ª e 9.ª repicagens, para as mesmas cinco raças. Pela representação gráfica destes resultados (Fig. 1), nota-se que houve sempre um acréscimo de produção de ácido cítrico, que se estabilizou depois da 6.ª repicagem.

O Quadro III mostra-nos a amplitude de rendimentos de ácido cítrico para as raças estudadas com ensaios de fermentação. Por ele se vê que quase todas as raças da colecção se encontravam degeneradas. Esta degenerescência afectou também, e muito, as raças eleitas, pelo que se prova altamente proveitoso o trabalho de revigoramento.

QUADRO II

Resultados da regeneração, expressos em ácido cítrico (°/o de açúcar)

N.º da raça	Inicial-mente	Após as repicagens					
		1.ª	2.ª	3.ª	5.ª	7.ª	9.ª
28	31.1	31.2	36.0	40.7	48.0	54.3	54.2
31	28.3	28.7	35.9	43.2	54.0	54.3	54.3
34	27.7	28.4	33.9	40.7	50.3	54.4	54.3
50	31.0	31.9	32.8	39.6	48.5	54.3	54.4
51	26.9	26.8	39.5	43.6	50.0	54.5	54.3

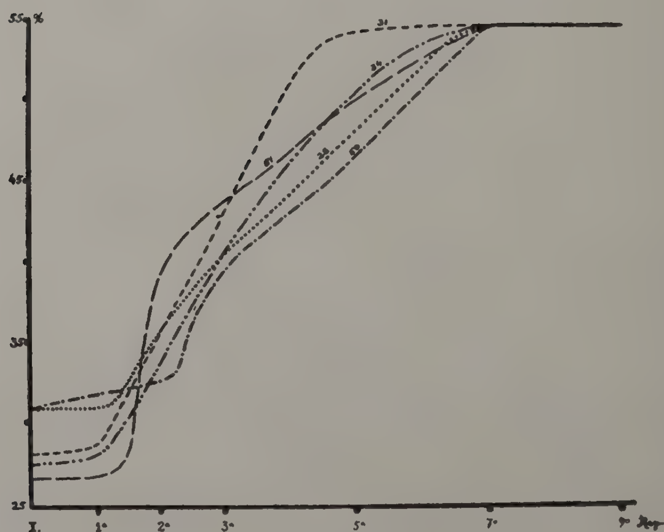


Fig. 1

QUADRO III

Amplitude dos valores de ácido cítrico

N.º da raça	Amplitude	N.º da raça	Amplitude	N.º da raça	Amplitude	N.º da raça	Amplitude	N.º da raça	Amplitude
2	26.8	19	27.3	30	17.3	40	20.6	48	2.2
3	18.5	21	19.9	31	26.0	42	29.9	49	28.0
5	14.9	24	13.8	34	26.6	43	27.0	50	23.4
10	23.7	26	25.8	35	6.4	46	13.9	51	27.4
11	10.8	28	23.1	37	20.6	47	25.3	54	15.5

CONCLUSÕES

Pelo referido nos capítulos anteriores, verifica-se que:

1.º — A técnica de FOSTER e DAVIS permitiu uma eficaz selecção racial de *Aspergillus niger*, de carácter citrogéneo. Perante a técnica antiga de selecção por meio de ensaios fermentativos o método de FOSTER e DAVIS mostra-se mais simples e expedito, uma vez que requere apenas o curto período de 24 horas;

2.º — Houve uma regeneração acidogénea, que se estabilizou depois da 6.ª repicagem, seguindo a técnica de CHRZASZCZ e ZAKOMORNY;

3.º — Foi possível determinar as caracteristícas citrogéneas de cinquenta e cinco raças de *Aspergillus niger*, com sete repicagens consecutivas para o meio nutritivo «malte--peptona».

SUMÁRIO

No presente estudo descreve-se o trabalho da selecção racial de *Aspergillus niger* com forte poder citrogéneo, efectuado segundo a técnica de FOSTER e DAVIS.

A conhecida degenerescência bioquímica destes fungos, determinou a necessidade de efectuar trabalhos no sentido de adquirir informação sobre as características citrogéneas próprias de cada raça, para o que adoptámos a técnica de CHRZASZCZ e ZAKOMORNY.

SUMMARY

A selective method of citrogeneous *Aspergillus niger* for industrial purposes is described.

The possibility of generalizing the CHRZASZCZ and ZAKOMORNY procedure for determination of the maximum citrogeneous capacity has been ascertained.

Fifty five races have been studied and, among them, five selected.

BIBLIOGRAFIA

BERNHAUER, K.

1926 Über die Säurebildung durch *Aspergillus niger*. I. Allgemeins und Methodisches bei der Untersuchung der Säurebildungs-Vorgänge. *Biochem. Z.* **172**: 296-312.

CHRZASZCZ, T. und ZAKOMORNY, M.

1937 Über physiologische De- und Regeneration von Schimmelpilzen mit Kräftiger Citronensäureerzeugung. *Biochem. Z.* **291**: 312-324.

FOSTER, J. W. and DAVIS, H.

1949 Detection and Occurrence of Acidproducing Fungi. *Bull. Torrey bot. Cl.* **76**: 174-176.

UMA DEFICIÊNCIA DE MANGANÉSIO

POR *MANOEL VASCO DA GAMA*

E

FERNANDO CÂMARA DE FREITAS

(Estação Agronómica Nacional)

INTRODUÇÃO

EM certas manchas arenosas, que têm por centro a vila do Cartaxo, e que na Carta dos Solos de Portugal se classificam como «Regosolos», a maior parte da sua vegetação arbórea e arbustiva cobre-se de folhagem de colorido anormal. A alteração do pigmento clorofilino verifica-se justamente na época da rebentação, em que o verde das folhas se apresenta duma tonalidade mais ténue. Simultâneamente com o crescimento, e a partir das folhas da base, a cor verde vai-se esbatendo cada vez mais nas margens e entre as nervuras. No estado final desta modificação pigmentar, as folhas apresentam uma coloração bem característica — verde junto às nervuras, principais e secundárias, e amarela nas restantes zonas. As plantas que mostram esta anomalia tem menor capacidade produtiva e no caso particular da videira, que é agrìcolamente predominante na região, esta capacidade chega por vezes a ser nula.

Afastada a hipótese de se tratar duma doença de origem parasitária, em virtude da imobilidade das manchas atingidas e da semelhança dos quadros sintomatológicos em toda a vegetação, procurou-se relacionar esta anomalia com as condições adversas do solo. Na verdade, o aspecto característico das folhas faz lembrar uma irregularidade fisiológica, uma carência de qualquer elemento essencial à vida das plantas, porventura de manganésio, hipótese que é sugerida pela observação dos sintomas.

É o manganésio um daqueles elementos essenciais, que actua como factor catalítico e, entre outras funções, atribuem-lhe papel fundamental na formação da clorofila, na actividade oxi-redutora

dos enzimas, na síntese das proteínas e dos hidratos de carbono e na elaboração da vitamina C. A sua carência faz-se sentir especialmente nas folhas pelo desenvolvimento de manchas cloróticas entre as nervuras, sintoma de carência também doutros elementos. Devido à sua natureza, pode apresentar-se no solo em diversos estados de oxidação a que parece corresponderem, também, diversos estados de assimilação, relacionando-se, assim, a carência com as formas em que o manganésio se encontra no solo. É na forma bivalente que se diz ser utilizado pelas plantas, mas, nesta forma, o seu teor no solo é função de diversos factores, entre os quais o pH, a natureza do terreno, a matéria orgânica, o clima e, em última análise, o estado do sistema oxi-redutor do solo. Por tudo isto se pode já ajuizar da complexidade da química deste elemento, nomeadamente da insegurança do método de extracção, que precede a determinação analítica. Muito mais elucidativa é, felizmente, a análise das plantas e, principalmente, a análise foliar. Porém, o que se doseia nas folhas nem sempre está relacionado com a quantidade metabolizável. Há, portanto, que ter cuidado com a interpretação dos resultados, porque se não pode esquecer o princípio da interacção dos elemento, que se aplica não só ao solo, mas também à própria planta. O ferro e o manganésio são disso notável exemplo.

MATERIAL E MÉTODOS

Diversas espécies vegetais apresentavam sinais comuns à mesma anomalia: videira, damasqueiros, pessegueiros, ameixieiras, maceiras, laranjeiras, silvas e marmeleiros. Foi sobre a primeira espécie que incidiu o estudo e a análise foliar, pelo facto já apontado de se tratar predominantemente duma região vitícola. As folhas foram colhidas na mesma posição das varas — o sexto nó aquém do último atempado, tanto em videiras sãs como nas doentes e, por duas vezes, uma nos princípios e a outra nos fins do mês de Setembro de 1951. Consideraram-se apenas duas variedades — Fernão Pires e Trincadeira Preta, as mais frequentes nas plantações. As folhas foram secas, calcinadas a 450° C. e as cinzas extraídas com ácido clorídrico. Determinaram-se os seguintes elementos — Ca, Fe, Mg, Mn, K e Na. À excepção do cálcio, doseado volumètricamente após a precipitação sob a forma de oxalato pelo permanganato, em todos os outros elementos se usou o método

espectrográfico da chama de LUNDEGARDH (2). A terra foi colhida em covas, abertas à profundidade da surriba, entre cepas que se mostravam claramente afectadas e, também, onde não havia dúvida que fossem normais. De cada cova, colheram-se três amostras — uma do material originário, outra à superfície e a outra a meia profundidade. Nas amostras de terra fizeram-se as seguintes determinações:

Análise Mecânica pelo processo adoptado na Estação Agronómica Nacional.
pH pelo potenciómetro de Beckman.
Carbonatos pelo método de Schollemberger.
Matéria orgânica por combustão por via seca.
Hidrogénio de troca pelo método do acetato de bário.
Catiões de troca por extracção com uma solução normal e neutra de acetato de amónio e doseamento pelo método espectrográfico da chama de Lundegardh.
Manganésio fàcilmente reduzível por determinação pelo método de Lundegardh depois da redução efectuada pela hidroquinona.
Ferro e Manganésio extraídos por HCl pelo método de Lundegardh.
Fósforo assimilável por extracção com reagente de Morgan e determinação colorimétrica pelo método de TINSLEY e PIZER (3).

Para contra-prova, efectuaram-se, em Agosto de 1952, tratamentos que deviam ter sido aplicados a videiras, mas que, devido a condições meteorológicas adversas, que provocaram nas videiras péssimo aspecto vegetativo, foram realizados num grupo de árvores em que predominavam damasqueiros e ameixieiras. Esses tratamentos consistiram em pulverizações de solução de sulfato de manganésio em 3 concentrações, respectivamente de 200, 400 e 600 g por 100 litros de água.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos resultados da análise das folhas, inseridos no Quadro I, os valores que apresentam maiores diferenças são, sem dúvida, os de manganésio. Em vinte e três amostras de videiras afectadas apenas duas revelam mais de 10 ppm.; pelo contrário, em onze

QUADRO I — FOLHAS

Amostra	Ca	Mg	K	Na	Mn	Fe
				DEFICIENTES		
1 1.ª C.	3.39	0.308	0.681	0.0493	0.00051	0.0125
2	3.88	0.383	0.553	0.0493	0.00084	0.0097
3	3.16	0.300	1.710	0.0218	0.00040	0.0112
4	3.18	0.394	1.650	0.0316	0.00065	0.0131
5	2.42	0.550	0.620	0.0503	0.00062	0.0081
6	2.78	0.615	0.792	0.0423	0.00062	0.0075
7	3.32	0.255	0.691	0.0276	0.00058	0.0112
8	2.51	0.340	0.780	0.0294	0.00052	0.0149
9	2.47			0.0296	0.00089	0.0143
10	3.59	0.241	0.652	0.0239	0.00068	0.0084
11	2.94	0.314	1.080	0.0185	0.00059	0.0110
12	2.46	0.196	0.927	0.0230	0.00079	0.0143
13	2.78	0.288	0.809	0.0267	0.00068	0.0201
14 2.ª C.		0.570	0.555	0.1020	0.00050	0.0113
15		0.445	0.744	0.0787	0.00044	0.0105
16		0.354	0.708	0.0290	0.00052	0.0098
17		0.365	0.726	0.0326	0.00056	0.0100
18		0.342	0.458	0.0505	0.00011	0.0109
19	2.35	0.288	0.787	0.0424	0.00067	0.0068
20	2.22	0.349	0.817	0.0506	0.00124	0.0074
21	2.70	0.376	1.050	0.0229	0.00074	0.0085
22	2.38	0.341	1.160	0.0222	0.00076	0.0106
23	2.76	0.328	0.980	0.0443	0.00070	0.0101
Média . . .	2.86	0.361	0.866	0.0386	0.00066	0.0109
				NÃO DEFICIENTES		
24 1.ª C.	3.02	0.380	0.236	0.0209	0.00315	0.0117
25	2.93	0.403	0.331	0.0219	0.00569	0.0115
26	2.24	0.471	0.268	0.0274	0.00404	0.0145
27	2.09	0.340	1.000	0.0183	0.00599	0.0091
28	2.37	0.240	0.485	0.0183	0.00264	0.0133
29	2.12	0.421	0.544	0.0209	0.00262	0.0143
30	3.29	0.230	0.652	0.0123	0.00357	0.0072
31	2.00	0.220	0.647	0.0245	0.00551	0.0075
32 2.ª C.		0.394	0.905	0.0310	0	0.0094
33		0.317	0.325	0.0417	0.00400	0.0100
34		0.360	0.698	0.0412	0.00169	0.0070
35		0.384	1.040	0.0158	0.00155	0.0064
36	2.83	0.515	0.390	0.0411	0.00352	0.0120
Média . . .	2.54	0.359	0.586	0.0257	0.00400	0.0103

Os resultados estão expressos em relação a 100 g de matéria seca a 100-105° C.

amostras das treze, correspondentes a videiras, que vegetam em boas condições, os valores da manganésio estão acima de 20 ppm.. As folhas normais apresentam sempre um teor mais elevado do que as cloróticas, sendo a média nas primeiras de 40 ppm. e nas outras de 6,6 ppm..

Observa-se uma íntima relação entre aquela diferença e os valores de pH, dos carbonatos e do cálcio de troca, do solo, expressos no Quadro II.

O exame deste quadro mostra a circunstância flagrante de a reacção do solo ser quase neutra ou ligeiramente alcalina nas condições em que surgem as irregularidades foliares, e ser ácida naquelas outras em que a vegetação se desenvolve normalmente.

Enquanto no primeiro caso o pH varia entre 6,6 e 8,2, no segundo a oscilação verifica-se entre 4,6 e 6,4, com duas excepções apenas e essas justificáveis.

Estes valores, bem como os da análise mecânica, matéria orgânica e carbonatos, fazem prever, só por si, uma carência de manganésio, àcerca da qual TRUOG escreveu o seguinte: «A existência de manganésio assimilável em solos arenosos ou francos e pobres em matéria orgânica é, com frequência, muito reduzida para as disponibilidades das plantas, quando o pH está acima de 7 e especialmente quando os solos são calcários» (4).

Na vasta bibliografia referente ao manganésio este valor de pH desce muitas vezes a 6,5 concordando, por conseguinte, com os valores que nós encontrámos.

No Quadro II nota-se certa contradição com o que foi exposto, mas ela é só aparente: os solos, onde as videiras se mostram afectadas, são precisamente os que revelam maior percentagem das três fracções do manganésio de troca, reduzido pela hidroquinona e extraído pelo HCl a 1:1. A explicação dos valores das últimas fracções está, com certeza, na lavagem mais intensa e na maior utilização pela planta, que se verificam nas condições ácidas. O manganésio, ao oxidar-se, contraria toda a acção de desgaste das suas reservas.

A ligeira diferença verificada nos resultados do manganésio de troca pode ser encarada como proveniente do arrastamento de vestígios de manganésio doutras fracções.

Finalmente, quanto aos resultados das pulverizações com as concentrações atrás indicadas, viu-se que:

Cerca de uma semana depois dos tratamentos, as folhas mos-

QUADRO II — SOLOS

Amostra	Areia grossa %	Areia fina %	Limo %	Argila %	Textura	pH	Carbonatos %	Matéria org. %	H troca	Ca troca	Mg troca	K troca	Na troca	Mn troca	Mn fac. red.	* Mn	* Fe
							DEEICIENTES										
A1	60.2	25.0	12.1	2.7	arenoso	7.3	0.18	1.14	—	11.50	0.167	0.102	vtg.	0.0041			
A2	55.2	26.4	15.3	3.1	»	7.9	0.65		—	20.38	0.048	0.087	0.032	0.0041			
A3						7.6											
B1	39.5	33.2	15.6	11.7	fr-aren	7.9	0.87	0.56	—	20.48	0.271	0.113	0.104	0.0036			
B2	45.1	31.4	13.8	9.7	»	7.7	2.44		—	28.88	0.158	0.100	0.060	0.0069			
B3						8.1											
C1-2	38.4	22.3	15.5		f-ag-ar	7.5	0.16	0.33	—	12.75	0.652	0.087	0.066	0.0028			
C3						7.9											
D1	39.5	33.6	18.6	8.3	fr-aren	7.6	0.21	0.71	—	10.80	0.135	0.078	0.056	0.0035	0.0982		11.60
D2	38.7	36.5	18.6	6.2	»	7.8	0.93		—	25.20	0.103	0.069	0.049	0.0064			
D3						7.7											
E1	58.6	30.1	5.0	6.3	arenoso	7.9	0.22	0.53	—	10.50	0.059	0.048	0.011	0.0043	0.0755	0.1490	6.65
E2	60.0	27.6	11.0	1.4	»	7.8	0.10		—	7.12	0.021	0.025	vtg.	0.0024			
E3						7.7											
F1	52.8	30.3	11.9	5.0	»	7.4	0.05	0.66	—	6.61	0.139	0.109	0.068	0.0024			
F2	59.3	25.4	10.9	4.4	»	7.6	0.15		—	7.75	0.103	0.088	vtg.	0.0024			
F3						7.7											
G1	64.5	25.1	8.5	1.9	»	6.7	—	0.62	0.50	4.46	0.096	0.170	»	0.0005		0.1250	7.05
G2	62.4	26.4	9.1	2.1	»	7.2	0.02		—	7.31	0.117	0.124	0.019	0.0038			
G3						7.6											
H1	47.2	22.6	17.0	13.2	fr-aren	7.3	0.20	1.64	—	10.40	0.267	0.199	vtg.	0.0032	0.0970	0.1150	15.80
H2	49.8	23.5	11.5	15.2	»	7.1	0.02		—	5.30	0.138	0.081	0.024	0.0014			
I1	61.2	20.9	3.9	14.0	arenoso	7.5	0.27	0.53	—	24.95	0.267	0.216	0.035	0.0044			
I2	63.0	19.0	9.6	8.4	»	7.6	0.21		—	9.15	0.519	0.081	0.014	0.0031			
I3						7.8											
J1	63.2	21.1	12.4	3.3	»	7.9	0.21	0.43	—	7.50	0.104	0.096	vtg.	0.0008	0.0336	0.1120	11.20
J2	51.7	27.6	15.1	5.6	»	7.9	0.50		—	13.40	0.219	0.066	0.031	0.0012			

M 3						6.6											
Médias						7.6	0.42	0.69		11.85	0.170	0.100	0.028	0.0029	0.0760	0.1250	10.46
						NÃO DEFICIENTES											
N 1	58.1	13.6	7.7	20.6	fr-aren	5.0	—	0.26	1.00	1.32	0.284	0.073	0.098	0.0010	0.0272	0.0375	8.20
N 2	64.9	9.9	10.1	15.1	»	5.0	—		1.25	1.24	0.257	0.027	0.066	0.0011			
N 3						4.6											
P 1	19.8	36.3	26.3	17.6	»	5.9	—		1.00	5.12	1.080	0.171	0.071	0.0044			
P 2	23.2	41.1	24.2	11.5	»	6.2	—		0.75	3.30	1.175	0.063	0.049	0.0035			
P 3						6.4											
Q 1	71.6	22.6	1.0	4.8	arenoso	5.4	—	0.03	1.00	2.00	0.104	0.028	vtg.	0.0028	0.0755	0.0805	7.25
Q 2	64.4	20.8	6.6	8.2	»	5.8	—	1.00	1.00	1.05	0.295	0.109	0.107	0.0011			
Q 3						6.5											
R 1	67.2	13.7	5.1	14.0	»	4.9	—	0.47	1.50	1.12	0.223	0.079	0.017	0.0005	0.0205	0.0435	14.60
R 2	69.2	12.2	5.8	12.8	»	5.1	—		1.50		0.510	0.116	0.007	0.0007			
S 1	68.0	19.3	11.0	1.7	»	5.3	—	1.20	1.25	1.92	0.104	0.049	vtg.	0.0027			
S 2	68.2	20.5	10.9	5.8	»	5.5	—		1.25	1.27	0.090	0.053	»	0.0005			
S 3						5.4											
T 1	18.4	31.5	20.1	30.0	argiloso	7.7	0.39	0.33	—	16.10	1.610	0.150	0.125	0.0005			
T 2	16.3	29.3	23.3	31.1	»	7.5	0.17		—		2.770	0.140	0.460	0.0007			
T 3						5.4											
U 1	58.0	27.7	10.8	3.5	arenoso	5.0	—	0.63	1.00	0.60	0.066	0.050	vtg.	0.0014			
U 2	53.6	28.8	14.0	3.6	»	5.5	—		1.00		0.083	0.042	0.017	0.0008			
U 3						5.5											
V 1	55.2	14.1	27.1	3.6	fr-aren	4.9	—	0.16	1.75	0.60	0.087	0.081	0.003	vtg.	0.0198	0.0870	11.20
V 2	54.4	24.5	13.5	7.6	»	5.0	—		1.75	0.64	0.069	0.069	0.014	0.0003			
V 3						5.1											
X 1	33.9	33.0	18.3	14.8	»	7.7	0.85	1.28	—	21.65	0.390	0.227	0.054	0.0045			
X 2	36.8	36.4	10.7	16.1	»	7.8	1.13		—		0.770	0.252	vtg.	0.0073			
Médias						5.3		0.66	1.21	1.76	0.181	0.072	0.032	0.0015	0.057	0.0621	10.33

Os catiões de troca e as fracções do Mn e do Fe estão expressas em m. eq./100 g.
* — Mn e Fe extraídos pelo HCl 1/1.

travam-se inteiramente verdes. A dose maior produziu leve queima dos bordos foliares, e a dose menor foi suficiente para o bom êxito. Mesmo naqueles casos em que só parte da copa recebera a solução, toda a árvore se apresentava verde, mas de tom mais carregado nas partes em que o manganésio tinha sido directamente aplicado.

A ideia, que os resultados da análise suscitava, obtinha, assim, a sua confirmação.

SUMÁRIO

Estuda-se um caso de deficiência de manganésio em algumas manchas de Regosolos, que têm por centro a vila do Cartaxo.

Descreve-se a sintomatologia provocada pela deficiência deste elemento, as suas funções na vida das plantas e diversos estados de oxidação a que correspondem diferentes graus de assimilabilidade.

Refere-se a insegurança de um método de extracção do manganésio assimilável do solo e a mais elucidativa análise do tecido foliar.

Indicam-se os métodos de análise química e espectrográficos seguidos nos solos e nas plantas.

Verificou-se que, nas plantas com sintomas de deficiência, a média do teor em manganésio era de 6,6 ppm., que o pH do solo, em que vegetam, variava entre 6,6 e 8,2 e que, nas plantas não afectadas, o teor em manganésio era de 40 ppm. e o pH do solo variava entre 4,6 e 6,4.

Menciona-se a aparente contradição de os solos em que vegetam plantas cloróticas apresentarem maiores percentagens de manganésio de troca, reduzido pela hidroquinona e extraído pelo ácido clorídrico a 1 : 1.

Indicam-se os resultados obtidos com pulverizações de sulfato de manganésio em diferentes concentrações.

SUMMARY

A study of a manganese deficiency in certain spots of Regosols near Cartaxo was carried out.

The insuitability of an extractant to the available manganese and the better results obtained from tissue analysis are pointed out.

The methods of chemical and spectrographic analysis of soil and plants are described.

The median concentration of manganese in deficient plants, which grown on soils with an acidity between 6.6 an 8.2, is 6.6 ppm. and in well developped plants the concentration of manganese is 40 ppm. and the soil pH varies between 4.6 and 6.4.

The contradiction of the higher concentration of exchangeable manganese extracted by hydroquinone or hydrocloric acid 1:1 in the soils, where the vegetation is deficient, is mentioned.

The results of sprays with different concentrations of manganese sulphate are also reported.

BIBLIOGRAFIA

(1) — BRAMÃO, L. et al.
1949 *Carta dos Solos de Portugal.*

(2) — LUNDEGARDH, H.
1951 *Leaf Analysis.* Translated by R. L. MITCHELL. London; HILGER and WATTS.

(3) — TINSLEY, J. and PIZER, N. H.
1945 The Morgan method of soil testing. Use of the Spekker absorptiometer for estimating phosphate. *J. Soc. Chem. Industry* **65**: 208-211.

(4) — TRUOG, E.
1948 Lime in relation to availability of plant nutrients. *Soil Sci.* **65**: 1-8.

PUBLICAÇÃO DA
DIRECÇÃO GERAL DOS SERVIÇOS AGRÍCOLAS
Repartição de Estudos, Informação e Propaganda

SUMÁRIO

TODA A CORRESPONDÊNCIA E PERMUTA REFERENTE À AGRONOMIA LUSITANA DEVE SER DIRIGIDA A:

POUR L'ÉCHANGE OU POUR LÀ CORRESPONDENCE CONCERNANT L'AGRONOMIA LUSITANA ON DOIT S'ADDRESSER À:

LETTERS AND EXCHANGE CONCERNING AGRONOMIA LUSITANA TO BE ADDRESSED TO:

ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL

SACAVÉM

PORTUGAL